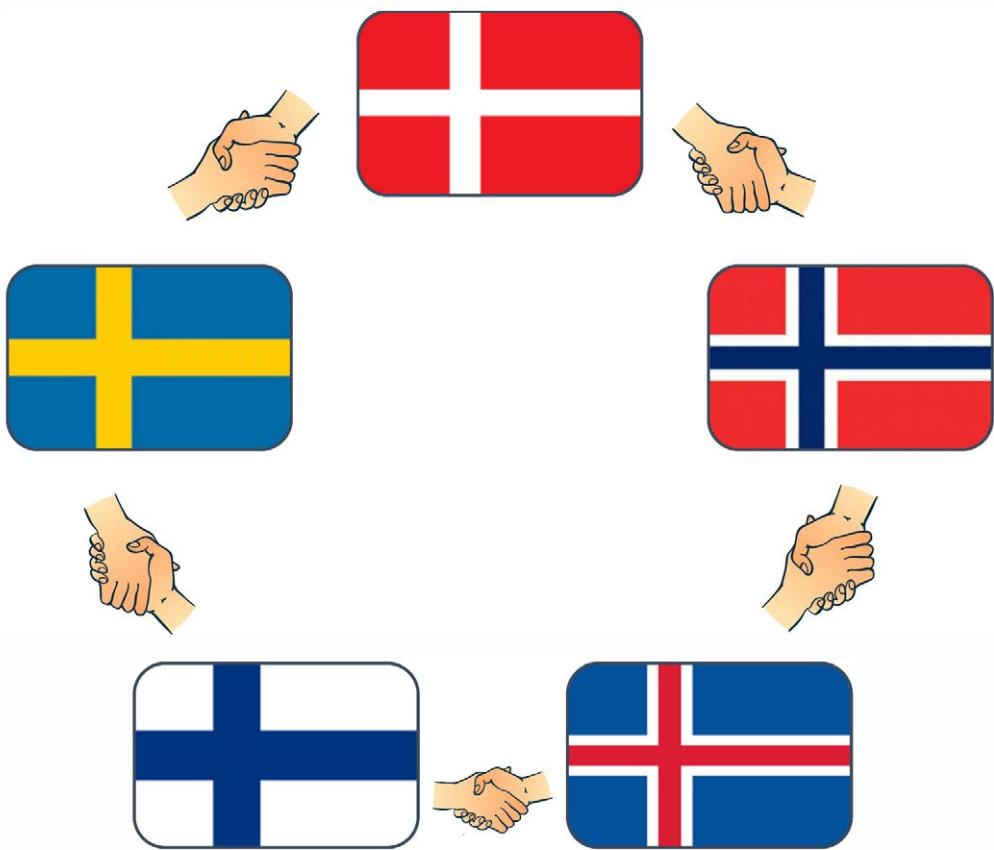


Klinisk Biokemi i Norden



FIGHTING THE CORONAVIRUS DRIVES YOU. DELIVERING HIGH-QUALITY ASSAYS DRIVES US.

ACCESS SARS-COV-2 IgG ASSAY

Integrate high-quality antibody testing into your routine workflow, regardless of the size of your lab to help identify front line healthcare providers, patients, and community populations who have potentially developed an immune response to the SARS-CoV-2 virus.

ACCURATE, RELIABLE RESULTS HIGH IN MEDICAL VALUE

The Access SARS-CoV-2 IgG assay detects antibodies to the receptor-binding domain (RBD) of the spike protein.

Studies have shown that antibodies against the RBD are neutralizing in vitro, indicating that they may be an effective measure of immunity when compared to antibodies against other SARS-CoV-2 viral proteins*.

SUPPORTING DATA & RESULTS

200 Tests an hour can be run on DxI 800, one of the highest throughput analyzers in the market.

Also runs on DxI 600 (100 tests/hour) and Access 2 (50 tests/hour). Runs in Random Access Mode seamlessly integrating into current lab workflow without the need for batching or special maintenance. The Access SARS-CoV-2 IgG assay has 200 tests per kit, requiring less frequent ordering.



100%
SENSITIVITY



99.8%

SPECIFICITY VALIDATED
AGAINST 1395 SAMPLES



200

TESTS AN HOUR CAN
BE RUN ON DXI 800

ASSAY CHARACTERISTICS:

 **2 STEP
ASSAY**

 **RESULTS
IN ~25 MINUTES**

 **28 DAYS
ONBOARD CALIBRATION**

SOLUTION

Generate accurate and reliable results that clinicians can trust for individualized patient care, with market-leading assay sensitivity and specificity that can be integrated seamlessly into routine laboratory workflow.

Learn more at www.beckmancoulter.com/coronavirus.

*References:

Human monoclonal antibodies block the binding of SARS-CoV-2 spike protein to angiotensin converting enzyme 2 receptor:
www.nature.com/articles/s41423-020-0426-7

Establishment and validation of a pseudovirus neutralization assay for SARS-CoV-2: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7144318

© 2020 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 Beckman Coulter's worldwide office locations and phone numbers, please visit www.beckmancoulter.com/contact



INDHOLD

Leder: Om nordisk samarbeid og norsken, svensken og dansken.....	4
<i>Helle B. Hager</i>	
Formandens spalte	7
<i>Henrik L. Jørgensen</i>	
The Astrup Prize 2020: Proteomes, thyroid hormones in pregnancy and Alzheimer diagnosing.....	10
<i>Lars Melholt Rasmussen</i>	
1st prize in the Astrup competition: Blood phosphorylated tau as biomarkers for Alzheimer's disease	12
<i>Thomas K. Karikari</i>	
2nd prize in the Astrup competition: Hyperthyroidisme hos gravide og medfødte misdannelser	16
<i>Stine Linding Andersen</i>	
3rd prize in the Astrup competition: Maske-spektrometri baseret proteom profiler til forskning og måske til fremtidens klinisk biokemi?....	20
<i>Nicolai J. Wewer Albrechtsen</i>	
Forhøjet plasma B12 – Supersund eller syg?.....	24
<i>Johan Frederik Håkonsen Arendt, Ebba Nexo</i>	
Ekvivalenstesting i laboratoriet.....	36
<i>Arne Åsberg, Kristine Solem, Gustav Mikkelsen</i>	
Användning av "tillväxtkurvor" för barn för att skatta njurfunktionen	39
<i>Anders Larsson</i>	
Patofysiologin vid krympt-por-syndrom (KPS), en vanlig njursjukdom med hög mortalitet	40
<i>Gabriel Grubb, Monisha Pandita, Anders Grubb</i>	
The ACT in 2020.....	44
<i>Florian Falter, Evelien Kemna</i>	
Ph.d. afhandling: Biokemiske markører associeret til øget mortalitet hos hoftefrakturpatienter.....	50
<i>Debbie Salling Norring-Agerskov</i>	

Forsiden: En illustrasjon på nordisk samarbeid og -kulturfellesskap. Figur: Helle B. Hager.

Leder: Om nordisk samarbeid og norsken, svensken og dansken

Helle Borgstrøm Hager



Denne våren, da hele verden stengte ned og vi alle skulle holde oss mest mulig hjemme på grunn av koronapandemien, oppdaget jeg et radioprogram som heter *Norsken, svensken og dansken*. Nei, det er ikke et program der det fortelles dårlige vitser (jokes/skämt) som fremstiller svensker som dummere enn dansker og nordmenn. Det er et program som sendes på norsk, svensk og dansk radio (og som podcast), der aktuelle nyhetssaker i Danmark, Norge og Sverige debatteres. Det fokuseres på kulturelle likhetstrekk og forskjeller mellom de tre nordiske landene, og et av målene med programmet er å skape økt forståelse mellom Norge, Sverige og Danmark. Det skulle ha vært et talkshow med gjester i studio, men de tre programlederne, Hilde Sandvik (norsken), Åsa Linderborg (svensken) og Hassan Preisler (dansken), har dette året fått måttet sitte i hver sine karantenestuer i hvert sitt land. Samtalene mellom de tre er interessante, lærerike og ikke minst underholdende. Vårens programmer var sterkt farget av den pågående pandemien. Her er et lite knippe av noen av overskriftene det siste halve året:

- Om svensk corona-ekspertvelde, dansk militarisme og norsk hytteskam
- Om prisen på et liv, verdien av håp og hvem som takler krisen best
- Om sexsymbolen Anders Tegnell, den drapssiktede norske milliardær og shariasjeiken som lurte den danske stat
- Om skandaler i det danske militæret og det norske Arbeiderpartiet, og hvorfor svensken hater det norske Oljefondet
- Om korona-läget, en true crime med dansk ubåtkaptein, et rettsdrama med norsk justisministerfrue og en flip-flop med Stefan Löfven.

Norsken, svensken og dansken snakker nettopp norsk, svensk og dansk i radioprogrammet. Det samme gjør vi i KBN-redaksjonen på våre møter, selv om vi er representanter fra alle fem land i Nor-



den. Dette er kun mulig fordi Henrik fra Finland har svensk som sitt morsmål og fordi Ingunn fra Island har studert i Sverige og har et utmerket språkøre. Akkurat som i radioprogrammet, har vi noen ganger problemer med å forstå hverandre, men det har også blitt mange gode historier ut av språkmisforståelsene. Og gjennom å møtes og snakke våre skandinaviske språk, økes vår språk- og kulturforståelse. Vi lærer om forskjeller og ulikheter i de fem nordiske land, enten det dreier seg om hvordan vi organiserer våre laboratorier eller navnene på planter og dyr på de ulike skandinaviske språk.

Da jeg vokste opp på 1970- og 80-tallet så vi på både norsk og svensk barne-TV, og i bokhyllen til foreldrene mine fant jeg både svenske og danske romaner i tillegg til norske. Dagens unge voksne ser lite på lineær TV og enda mindre på TV fra de andre nordiske landene, og skandinaviske barneprogram og -filmer blir ofte dubbed. Undersøkelser viser at samtalene mellom nordmenn, svensker og dansker ikke flyter like lett som før. En spørreundersøkelse fra 2012 (1) viste at:

- Nordmenn forstår svensk, men sliter med muntlig dansk.
- Svenskene forstår norsk, men har store problemer med dansk.

No.1 Fast Chemiluminescence Immunoassay



600T/H

MAGLUMI® X8

- Throughput: Maximum **600** tests/hour
- On board capability: **300** samples
- Reagent position: **42**
- Random access or batch mode, STAT
- Capable to integrate several modules including Snibe Immunoassay, Biochemistry and ISE module
- Using disposable TIPs
- Capable to link to Laboratory Automation system (TLA/LAS)

thermo
scientific
Authorized Distributor

MAGLUMI® Test Menu

Thyroid	Fertility	Tumor Markers	Cardiac	Inflammation Monitoring	EBV
TSH (3rd Generation) <small>FDA</small>	FSH	AFP	CK-MB	hs-CRP	EBV EA IgG
T4 <small>FDA</small>	LH	CEA	Troponin I	PCT (Procalcitonin)	EBV EA IgA
T3 <small>FDA</small>	HCG/β-HCG <small>FDA</small>	Total PSA	Myoglobin	IL-6 (Interleukin 6)	EBV VCA IgG
FT4 <small>FDA</small>	PRL (Prolactin)	f-PSA	hs-cTnI	*SAA (Serum Amyloid A)	EBV VCA IgM
FT3 <small>FDA</small>	Estradiol	CA 125	H-FABP		EBV VCA IgA
Tg (Thyroglobulin)	Testosterone	CA 15-3	NT-proBNP		EBV NA IgG
TGA (Anti-Tg)	free Testosterone	CA 19-9	BNP		EBV NA IgA
Anti-TPO	DHEA-S	PAP	D-Dimer		
TRAb	Progesterone	CA 50	Lp-PLA2		
TMA	free Estriol	CYFRA 21-1	*MPO		
Rev T3	17-OH Progesterone	CA 242			
*T-Uptake	AMH	CA 72-4			
	SHBG	NSE			
	Androstenedione	S-100			
	*PIGF	SCCA			
	*sFlt-1	TPA-snibe			
		ProGRP			
		HE4			
		HER-2			
		*PIVKA-II			
Autoimmune	Hepatic Fibrosis				
Anti-CCP	HA	Metabolism	Pepsinogen I	Inflammation Monitoring	EBV EA IgG
Anti-dsDNA IgG	PIIIP N-P		Pepsinogen II	hs-CRP	EBV EA IgA
ANA Screen	C IV		Gastrin-17	PCT (Procalcitonin)	EBV VCA IgG
ENA Screen	Laminin		GH (hGH)	IL-6 (Interleukin 6)	EBV VCA IgM
Anti-Sm IgG	Cholylglycine		IGF-I	*SAA (Serum Amyloid A)	EBV VCA IgA
Anti-Rib-P IgG			IGFBP-3		EBV NA IgG
Anti-Scl-70 IgG					EBV NA IgA
Anti-Centromeres IgG					
Anti-Jo-1 IgG					
Anti-M2-3E IgG					
Anti-Histones IgG					
Anti-nRNP/Sm IgG					
Anti-SS-B IgG					
Anti-SS-A IgG					
TGA(Anti-Tg)					
Anti-TPO					
TRAb					
TMA					
ICA					
IAA (Anti Insulin)	HSV-1/2 IgG	Prenatal Screening	HBsAg	Hypertension	Bone Metabolism
GAD 65	HSV-1/2 IgM	AFP (Prenatal Screening)	Anti-HBs	Direct Renin	Calcitonin
Anti-IA2	HSV-2 IgG	Free β-HCG	HBeAg	Aldosterone	Osteocalcin
*Anti-Cardiolipin IgG	*HSV-2 IgM	PAPP-A	Anti-HBe	Angiotensin I	25-OH Vitamin D <small>FDA</small>
*Anti-Cardiolipin IgM	*HSV-1 IgG	free Estriol	Anti-HBc	Angiotensin II	Intact PTH
*Anti-MPO	*HSV-1 IgM		Anti-HCV	Cortisol	*β-CrossLaps (β-CTX)
			Syphilis	ACTH	*total P1NP
TORCH					
Toxo IgG		Infectious Disease	Anti-HAV	Anemia	Immunoglobulin
Toxo IgM			HAV IgM	Vitamin B12	IgM
Rubella IgG			HIV Ab/Ag Combi	Ferritin	IgA
Rubella IgM			Chagas	Folate (FA)	IgE
CMV IgG			HTLV I+II	*RBC Folate	IgG
CMV IgM			H.pylori IgG		
HSV-1/2 IgG			H.pylori IgA		
HSV-1/2 IgM			H.pylori IgM		
Anti-IA2	HSV-2 IgG		2019-nCoV IgG <small>NEW</small>		
			2019-nCoV IgM <small>NEW</small>		
*Anti-Cardiolipin IgG	*HSV-2 IgM		SARS-CoV-2 S-RBD IgG <small>NEW</small>		
*Anti-Cardiolipin IgM	*HSV-1 IgG		*Anti-HBc IgM		
*Anti-MPO	*HSV-1 IgM				
Glyco Metabolism					
C-Peptide					
Insulin					
GAD 65					
Anti-IA2					
ICA					
IAA (Anti Insulin)					
Proinsulin					

* Available soon

- Danskene har problemer med begge språk, men aller mest svensk.

Men det finnes hjelp å få. *Kalabalik och kravaller* er en Facebookgruppe for «nordmenn som elsker svensk nok til å skjonne at språket må læres, og for svensker som smigres nok til å ville hjelpe». *Nordsnakk* organiserte rundt 2012 gruppesamtaler der man kunne øve seg på den nordiske språkforståelsen med hverandre over Skype, men ser ikke ut til å finnes lenger. *Foreningen Norden* har siden opprettelsen i 1919 vært en pådriver for nordisk samarbeid, gjennom fokus på språk, kultur, historie og samfunnsliv. I 2016 ga foreningen språkprisen til den norske dramaserien *Skam*. Begrunnelsen var at Skam fører Norden tettere sammen gjennom økt interesse for skandinaviske språkvariasjoner. Aldri før har danske, svenske, finske og islandske seere vært så opptatt av en norsk

ungdomsserie. Mange hadde ikke tålmodighet til å vente på sending i tradisjonelle TV-kanaler. De oppsøkte heller p3.no for å følge serien fortløpende, med original tale og med ingen eller norsk teksting.

Bli med i Norsken, svensken og danskens «Panskandinaviske terapirom» og øv opp din skandinaviske språk- og kulturforståelse. Eller engasjer deg i nordisk samarbeid, enten det gjelder deltagelse i styret i NFKK, en nordisk arbeidsgruppe eller i redaksjonen i Klinisk Biokemi i Norden.

1. Medievær og holdninger. Undersøkelsen er utført av Respons Analyse AS, og gjennomført i tiden 16. februar til 2. mars 2012. Omrent 600 journalister og 800 av befolkningen i hvert av de tre skandinaviske landene deltok, til sammen rundt 3600.



De nordiska flaggorna utanför Nordens hus (Norðurlandahúsið) i Torshamn. Foto: Henrik Alfthan.

Formandens spalte: Astrup konkurrencen 2020

Henrik L. Jørgensen
Formand i NFKK



Selvom den nordiske kongres i Trondheim desværre ikke kunne afholdes i år på grund af covid-19 epidemien, lykkedes det alligevel at afholde Astrup konkurrencen som et digitalt event. I figur 1 kan bedømmelseskomitéen og de tre finalister ses i screenshots fra zoomplatformen. Selve videoen af konkurrencen ligger på NFKKs hjemmeside (<http://www.nfkk.org/nyheter/217-astrup-taevlingen-2020-aer-avgjord>), og jeg kan varmt anbefale at se den. Det var tre virkelig gode foredrag af meget høj videnskabelig kvalitet om så forskellige emner som massespektrometrisk proteom profilering til at studere metabolisk sygdom, maternel hyperthyreoidisme og fødselsdefekter samt måling af fosforyleret tau i blod som markør for Alzheimer's sygdom. Selvom interaktionen med og spørgsmål fra det store publikum manglede, synes jeg alligevel, at man sagtens kunne fornemme spændingen ved kon-

kurrencen, og bedømmelseskomitéen under ledelse af professor Lars Melholt Rasmussen gjorde et fint stykke arbejde med at stille spørgsmål til foredragsholderne.

Astrup prisen blev etableret i 1979 af Radiometer som en hæderspris til professor Poul Astrup for hans store arbejde indenfor syre/base og blodgasser, der



Figur 2: Astrup Apparatus E50101 fra Radiometer til måling af blodgasser og syre/base status.

The screenshot shows a Zoom meeting interface. At the top left is the Siemens Healthineers logo. Below it, a slide for "Sponsor of the Astrup Prize" features a portrait of Poul Astrup and the text "We support young scientists." On the right side of the slide, there are four small video feeds of the audience members. The main content area contains three separate presentation slides:

- Top Left Slide:** Title "Mass spectrometry-based plasma proteomic profiling to study metabolic diseases" by Nicolai J. Wewer Albrechtsen. It includes his biography and affiliation with the University of Copenhagen.
- Top Right Slide:** Title "Maternal hyperthyroidism and birth defects: Treatment or thyroid function?" by Stine Linding Andersen, MD, PhD, DMSc. It includes her biography and affiliation with Aalborg University Hospital and Viborg Regional Hospital, Denmark.
- Bottom Right Slide:** Title "Blood phosphorylated tau as biomarkers for Alzheimer's disease" by Thomas K. Karikari, MD. It includes his biography and affiliation with the University of Gothenburg.

Figur 1: Screenshots fra Astrup konkurrencen (på Zoom platformen).

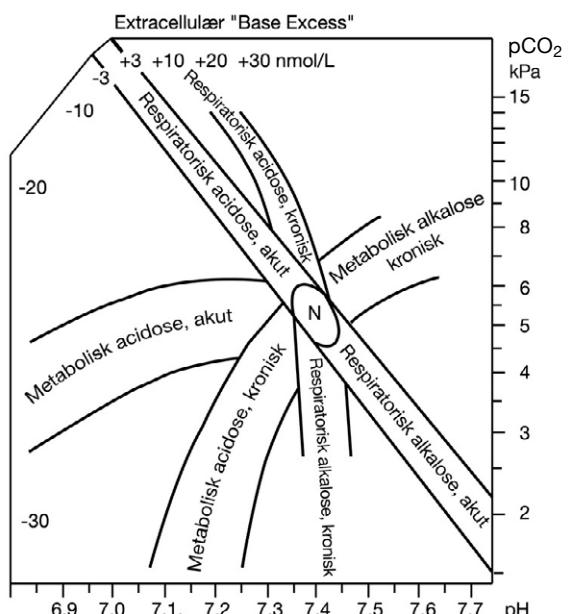
særligt er kendt i forbindelse med polio-epidemien i København i 1952, hvor anæstesiologen Bjørn Ibsen systematiserede assisteret respirationsbehandling til disse patienter. Poul Astrup bidrog til dette livreddende arbejde ved at udvikle metoder til at kontrollere og styre patienternes pH, pCO_2 , pO_2 mm. under respiratorbehandling. I samme periode samarbejde Poul Astrup også tæt med Radiometer, som i 1954 lancerede deres første medicotekniske apparat, der simpelthen hed Astrup Apparatus E50101 (figur 2) og var forgænger for den senere ABL1 - det første fuldautomatiske apparat til måling af blodgas. Som det sikkert er de fleste bekendt, blev Poul Astrup senere (i 1964) Danmarks første professor i klinisk kemi.

I 1981 blev prisen ligeledes uddelt som en hæderspris, denne gang til professor Ole Sigaard-Andersen, som introducerede begreberne base excess og standard base excess samt ikke mindst Sigaard-Andersen Nomogrammet til fortolkning af syre/base svar (figur 3).

Derefter er prisen blevet uddelt efter en konkurrence i forbindelse med de nordiske kongresser, hvortil yngre forskere kan indsnde abstracts. De tre bedste bliver derefter udvalgt til mundtlig præsentation, og bedømmelseskommittéen udpeger 1., 2. og 3. pladsen. De sidste mange år har Siemens Healthineers sponsoreret priserne, hvilket de skal have en stor tak for!

I tabel 1 ses listen over alle tidligere vindere af Astrup prisen. I 2022 skal vi mødes til den 38. kon-

gres i klinisk biokemi i Reykjavik, og her står Astrup konkurrencen selvfølgelig også på programmet. Så er du en ung (under 40 år) forsker i klinisk biokemi i et af de fem nordiske lande, bør du bestemt oveveje at indsnde et abstract (har man tidligere vundet 1. præmie i Astrup konkurrencen kan man ikke deltage).



Figur 3: Siggaard-Andersen Nomogrammet til fortolkning af syre/base svar

År	Vinder af 1. prisen	Land	År	Vinder af 1. prisen	Land
2022	?	?	1998	Lars Bo Nielsen	Danmark
2020	Thomas Karikari	Sverige	1996	Magnus Abrahamson	Sverige
2018	Stefan Stender	Danmark	1994	Finn Cilius Nielsen	Danmark
2016	Erik Portelius	Sverige	1992	Leena Peltonen	Finland
2014	Daniel Elenius Madsen	Danmark	1990	Jens F. Rehfeld	Danmark
2012	Emil Daniel Bartels	Danmark	1988	Björn Dahlbäck	Sverige
2010	Felicitas Muller	Sverige	1986	Steen Stender	Danmark
2008	Jeppe Zacho	Danmark	1984	Anders Grubb	Sverige
2006	Asfaque Ahmed Memon	Danmark	1983	Bent Nyboe Andersen	Danmark
2004	Anna Blom	Sverige	1981	Jørn Dyerberg	Danmark
2002	Lars Bo Nielsen	Danmark	1980	Ole Sigaard-Andersen	Danmark
2000	Sven Björnsson	Sverige	1979	Poul Astrup	Danmark

Tabel 1. Vinderne af Astrup prisen gennem tiderne.



IgM

IgA

IgG

Standardized autoimmunity testing – on a robust automated platform

With autoantibody tests for more than 20 clinical indications in a fully automated system, EliA™ assays allow you to measure autoantibodies as an aid in the diagnosis of autoimmune diseases and reduce the workload of your lab personnel.

EliA™ Autoimmunity tests



Connective tissue diseases

CTD Screen, Symphony®, dsDNA, ssDNA, U1RNP, RNP70, Ro, Ro52, Ro60, La, CENP, Scl-70®, Jo-1, SmD[®]-S, Rib-P, PCNA, RNA Pol III, Fibrillarin, PM-Scl, Mi-2, DFS70



Inflammatory bowel diseases

Calprotectin 2, ASCA IgG, ASCA IgA



Rheumatoid arthritis

CCP IgG, CCP IgA, RF IgM, RF IgA, RF IgG



Pernicious anemia

Intrinsic Factor, Parietal Cell



Vasculitis and goodpasture syndrome

PR3[®], MPO[®], GBM



Thyroid diseases

Anti-TG, anti-TPO, anti-TSH-R



Antiphospholipid syndrome

Cardiolipin IgG, IgM, IgA, β2-Glycoprotein I IgG, IgM, IgA
Lupus Anticoagulant IgG, IgM, IgA



Liver diseases

Primary biliary cholangitis Mithochondria M2,
Autoimmune Hepatitis LKM-1



Celiac disease

Celikey IgA, Celikey IgG (tissue transglutaminase), Gliadin[®]
IgA, Gliadin[®] IgG, Gliadin IgA, Gliadin IgG



Immunodeficiency

Anti-IgA

Find out more at thermofisher.com/phadia

ThermoFisher
SCIENTIFIC

The Astrup Prize 2020: Proteomes, thyroid hormones in pregnancy and Alzheimer diagnosing

Lars Melholt Rasmussen

Chairman for the Astrup Committee

Odense Universitets Hospital

lars.melholt.rasmussen@rsyd.dk



The Astrup Prize competition was held under special conditions this year, as you can read elsewhere in this issue. Despite hurdles from a global pandemic, we found a good way of keeping the tradition with an Astrup Prize competition every second year – and luckily enough: Siemens Healthineers decided to continue sponsoring of the prizes – thank you very much for that.

This year we received eight abstracts to be considered by the Astrup Committee for the competition. And frankly: they could all be winners! The level was very high, nevertheless, only three abstracts were chosen for oral presentation by the committee, consisting of Terho Lehtimaki, Finland, Anne-Lise B. Monsen, Norway, Isleifur Olafsson, Iceland, Anders Olof Larsson, Sweden and Lars Melholt Rasmussen, Denmark. The oral presentations was held online, and can now be found on the NFKK website. Nicolai Wewer Albrechtsen won the third prize. He is a young scientist from Copenhagen, who has already gained a remarkable record working with clinical proteomics. Nicolai presented a robust, high-throughput mass-spectrometry based approach for plasma proteomics. This methodology was applied to samples from patients with fatty liver disease and potential biomarker candidates were identified.

Stine Linding Andersen won the second prize. She is working in Aalborg and Viborg, and has tirelessly in an impressive way focused on issues about thyroid function and diseases for several years. She presented studies, which shed light on a difficult question about putative influences of maternal thyroid function and the use of antithyroid medication on the occurrence of birth defects. Her studies suggest that medication have effects, but that the thyroid function per se does not.

Thomas Karikari won the first prize. He is originally from Ghana, has stayed for periods in UK and USA, and has for the last couple of years worked in Gothenburg, where he has made significant contributions concerning biomarkers for Alzheimers disease. Thomas' presentation was a tour de force through a series of different studies, where analysis of blood p-tau181 was investigated in relation to tau- and Amyloid-beta pathologies like Alzheimers disease. These studies point towards the use of the blood-based test for screening and diagnosis of Alzheimers Disease in a way that suggest that this may soon be of use in clinical settings.

I will strongly encourage all of you to listen to the Astrup competition! You will discover that all three finalists give presentations at a very high international level – at the same time you will not only learn a lot about different areas of clinical chemistry – you will also be entertained and impressed!



Strandskata (*Haematopus ostralegus*). Foto: Henrik Alfthan.

Automatiseret udstyr til Ca^{2+}



V4 Automatic Plus fra Diestro

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none">Fuldautomatiseret analyse af Na^+, K^+, Cl^-, Li^+, Ca^{2+} & pH40 positioner i autosamplerIndbygget barkodelæser til primærrørSTAT-funktionLIS-opkobling | <ul style="list-style-type: none">Lukket system med alle nødvendige kalibreringsvæskerUdstyret med mikrochip for fuld sporbarhedIntet tomgangsforbrugResultater for Ca^{2+}, pH & Ca^{2+} v. pH 7.40 inden for 1 min |
|---|---|

Diestro

MEDICAL DEVICE TECHNOLOGY

ILS Danmark er distributør for Diestro i hele Norden. Diestro har eksisteret i mere end 25 år og har udviklet, produceret og markedsført instrumenter til måling af elektrolytter samt løbende tilpasset disse til markedets behov i hele verden. Diestro er ISO9001 og ISO13485-certificeret og deres instrumenter er CE-godkendt.



ILS Danmark er en danskejet ISO9001-certificeret virksomhed med mere end 27 år i branchen. Med egen salgs- og serviceafdeling står vi altid klar til at hjælpe, supportere og servicere vores brugere i hele Danmark og Norden. Vi har eget lager med reagenser, forbrugsvarer, serviceartikler mm. i vores faciliteter i Allerød. Dette sikrer, at vi kan garantere hurtige leverancer.

**Kontakt os gerne for en virtuel
præsentation af instrumentet.**

Mette Janniche
mette@ilsdk.dk / +45 2752 5967
www.il sdk.dk



1st prize in the Astrup prize competition: Blood phosphorylated tau as biomarkers for Alzheimer's disease

Thomas K. Karikari

*Department of Psychiatry & Neurochemistry
The Sahlgrenska Academy
University of Gothenburg
thomas.karikari@gu.se*



In 1906, Alois Alzheimer reported “a peculiar severe disease process of the cerebral cortex” (1). This dementia, involving amyloid-plaques and tau neurofibrillary tangles, would later be called Alzheimer’s disease (AD). Decades later, Braak and Braak described neuropathological staging of AD based on neuroanatomic immunostaining of tau correlating well with cognitive decline. Amyloid plaques, however, were of limited value for this purpose partly because amyloid-beta (A β) pathology is widespread once in symptomatic AD.

Neuropathological evidence of tau tangles and A β plaques remain the gold standard method for confirmatory diagnosis of AD. However, AD is often clinically diagnosed based on symptoms reflecting AD-type dementia that nonetheless overlap with other dementias, contributing to approximately one-in-three misdiagnosis rate compared with neuropathology. Biomarkers that can report on the disease may help improve the situation.

In 1995, Blennow and colleagues reported that tau phosphorylated at threonine-181 (p-tau) is distinctively released into cerebrospinal fluid (CSF) with increasing severity of AD; however, this biomarker was unchanged in other neurodegenerative diseases (2). Conversely, non-phosphorylated tau (“total-tau”) became abnormal in AD and several other neurological diseases(2). Subsequently, these assays were developed into different commercial tests on different technology platforms. Independent validation of the initial findings have resulted in the inclusion of p-tau and total-tau analyses in clinical and research guidelines for AD.

In living individuals, AD diagnosis currently relies on two main strategies: (i) CSF changes in p-tau, total tau and A β , and (ii) brain imaging of tau tangles and A β plaques by positron emission tomography (PET). CSF p-tau and tau PET are highly specific for AD pathophysiology. However, their utility is limited by invasiveness, complexity, and poor accessibility. Therefore a simple blood test that can detect disease-related changes will be highly advantageous.

Different pools of tau entities in blood versus CSF

AD blood tests present several exciting prospects. Blood, the most widely used biofluid in clinical chemistry, is highly accessible and cost-effective; sampling can be done remotely and frozen for future use. Nevertheless, blood testing for a brain disease is very challenging. Blood being remote from the brain reduces target analyte concentrations. Moreover, proteins in blood undergo regular turnover, complicating reliability of measurements. These difficulties were embodied by blood tests for total-tau which have poor diagnostic performances. Neurofilament light, another neurodegeneration marker, is increased in several neurodegenerative conditions as is therefore non-specific for AD.

CSF p-tau biomarkers target the mid-region of tau; however, these species are not measurable in blood. We, therefore, started exploring different forms of tau in blood. We discovered that different forms of truncated tau are available in CSF and blood; whilst CSF contains both N-terminal and mid-region tau, only the former appears to be available in reliable amounts in blood. Consequently, I developed a highly-sensitive immunoassay to detect N-terminal

forms of tau phosphorylated at threonine-181. This biomarker is distinct from the mid-region entities targeted by the established CSF assays.

Blood p-tau levels increase with disease severity

P-tau has excellent biomarker potential in all blood matrices (serum, EDTA-plasma, citrate-plasma and heparin-plasma) and associates with the intensity of amyloid plaques and tau tangles in the brain measured with A β -PET and tau-PET imaging respectively. Blood p-tau levels increase gradually as the disease becomes severe: low levels in healthy young and older adults (A β - cases) increase in those with preclinical AD (A β + older adults), followed by MCI (mild cognitive impairment; symptomatic stage) and further in AD dementia. Importantly, p-tau was normal in MCI and dementia without A β pathophysiology (3). These show that blood p-tau specifically reflects AD biological changes. These findings have been validated in over a dozen independent cohorts.

Blood p-tau predicts confirmed AD diagnosis eight years before death

Since confirmatory diagnosis of AD is established *post mortem*, we evaluated the capacity of blood p-tau

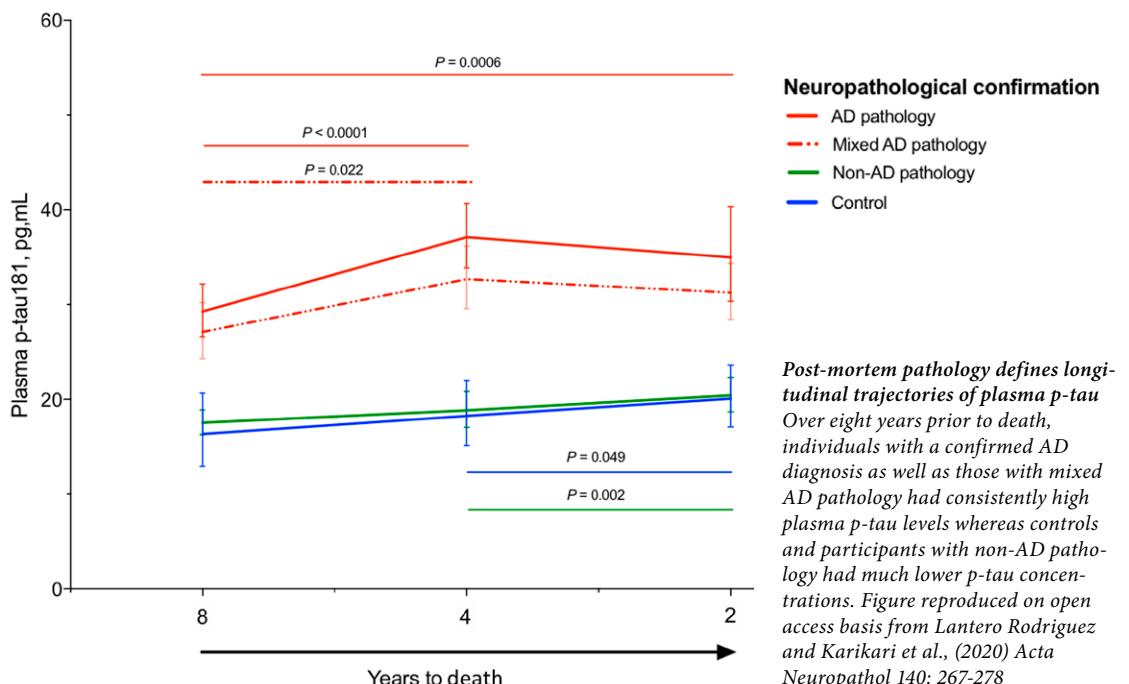
to identify definite AD and compared the results with pathological confirmation in the same individuals after death. P-tau concentrations measured eight years before death had better agreement with *post mortem* confirmation than clinical diagnosis during life (4). In addition to being increased in participants with a diagnosis of AD, p-tau was remarkably elevated in those with mixed AD regardless of the main diagnosis (Figure)(4).

Baseline blood p-tau predicts disease progression

In >1000 people with five-year follow-up, baseline p-tau predicted cognitive decline and progression to AD dementia. Among cognitively normal controls and MCI patients, those with high baseline p-tau progressed faster to AD dementia (5). In other words, high baseline p-tau accurately predicts future dementia and identifies those who are likely to deteriorate faster.

Longitudinal changes in blood p-tau

The biomarker has high analytical stability and low intra-individual variability (5). We estimate that, similar to CSF p-tau, it would take approximately six years for baseline plasma p-tau concentrations to sig-



nificantly change. This characteristic can be explored as an outcome measure in anti-AD therapeutic trials.

Future perspectives

Blood p-tau181 has shown high potential as an AD biomarker. We are establishing steps to evaluate this analyte in clinical routine – both in specialised and primary-care settings. Furthermore, diagnostic performances of p-tau181 will be compared with recently-described blood biomarkers (p-tau217 and p-tau231) to better understand their temporal dynamics.

References

1. Hippius H, Neudörfer G. The discovery of Alzheimer's disease. *Dialogues Clin Neurosci* 2003;5:101–108.
2. Blennow K, Wallin A, Ågren H et al. Tau protein in cerebrospinal fluid: a biochemical marker for axonal degeneration in Alzheimer disease? *Mol Chem Neuropathol* 1995;26:231–245.
3. Karikari TK, Pascoal TA, Ashton NJ et al. Blood phosphorylated tau 181 as a biomarker for Alzheimer's disease: a diagnostic performance and prediction modelling study using data from four prospective cohorts. *Lancet Neurol* 2020;19:422–433.
4. Lantero Rodriguez J, Karikari TK, Suárez-Calvet M et al. Plasma p-tau181 accurately predicts Alzheimer's disease pathology at least 8 years prior to post-mortem and improves the clinical characterisation of cognitive decline. *Acta Neuropathol* 2020;140:267–278.
5. Karikari TK, Benedet AL, Ashton NJ et al. Diagnostic performance and prediction of clinical progression of plasma phospho-tau181 in the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. *Mol Psychiatry* 2020; doi 10.1038/s41380-020-00923-z (ePub ahead of print).



Hemolysis free blood sampling.

Point of care detection of hemolyzed blood samples can increase patient safety and create major time and cost savings for healthcare

Hemolysis – the most common pre-analytical error

Hemolysis is well documented as the globally most common pre-analytical error in laboratory medicine. The incidence of hemolyzed blood samples varies and is normally most common in emergency departments often having a hemolysis rate of 5-12%.

Hemolyzed blood samples in vacuum tubes are usually detected in central laboratories, often resulting in a delay of 60-120 minutes in acute situations for correct test results, as the blood samples must be recollected. This can lead to increased waiting times and costs and a patient's condition not being treated in time, which might have severely negative consequences for patient safety in individual cases.

Although it is proven that hemolysis is common in blood gas samples and that several analyzes performed are significantly affected by hemolysis, there is no built-in hemolysis control in any blood gas instruments on the market. Healthcare staff will therefore regularly risk basing clinical decisions on incorrect test results or repeating analyzes or sending supplementary samples to the laboratory, which increases lead times and costs and reduces the value of the blood gas analysis.

Unique POC-concept for hemolysis detection

Hemcheck has developed a CE-marked solution for fast detection of hemolysis in whole blood samples in vacuum tubes (v-Test) and in blood gas syringes (s-Test).



Facts about Hemcheck

- Hemcheck produces and commercializes a unique concept for point of care detection of hemolysis in venous and arterial blood samples, contributing to more efficient and patient-safe care.
- The products are CE-marked and developed in Sweden together with healthcare staff.
- The technology has patent protection in Europe and the USA.
- The company is listed on Nasdaq First North Growth Market since 2017.

The user-friendly system is small, robust and portable and can be used anywhere, but is especially valuable for units having a high rate of hemolyzed blood samples and where the clinical impact and cost of each hemolyzed sample is high.

The v-Test enables hemolysis detection and direct sample retake in connection with blood collection and aims to improve the flows of samples and patients, reduce turnaround time, waiting times and patient length of stay, decrease staff workload, increase patient safety and save costs. The s-Test enables hemolysis detection either in connection with blood-sampling or blood gas analysis, and aims to contribute to more informed, reliable and timely clinical decisions and thereby improved patient safety.

Cost/benefit analysis shows substantial time and cost savings

Clinical studies show that the tests can effectively identify hemolyzed blood samples and, in case of vacuum tubes, greatly reduce the number of hemolyzed blood samples that reach the laboratory. The total cost for a rejected blood sample has been estimated in scientific articles to be above EUR 100 per sample and implies that Hemcheck's products are cost-effective even at lower levels of hemolysis. The positive effects of the concept in terms of reduced patient length of stay and cost savings, can be evaluated using the interactive, customized cost/benefit model at:

www.hemcheck.com

High user satisfaction and several new and ongoing customers

A user survey targeting all nurses enrolled in a clinical study at Capio S:t Görans hospital in Stockholm showed 100% user satisfaction with the products. The products are implemented in clinical practice at for example Tartu University Hospital in Estonia for usage at the oncology and hematology clinic and SYNLAB Sweden in primary care. Hemcheck is looking for other interesting projects and collaborations and offers healthcare providers the possibility to test the concept free of charge. For further details:

peter.andersson@hemcheck.com

2nd prize in the Astrup prize competition: **Hyperthyroidisme hos gravide og medfødte misdannelser**

Stine Linding Andersen

Blodprøver og Biokemi, Regionshospitalet Viborg og Klinisk Biokemisk Afdeling

Aalborg Universitetshospital

stine.a@rn.dk



Hyperthyrodisme er den kliniske tilstand, hvorved skjoldbruskkirtlen producerer for meget thyroidea hormon, og sygdommen er hos kvinder i fødedygtig alder oftest autoimmunt betinget. Det er veletableret, at hyperthyroidisme, som led i Graves' sygdom, skal behandles under graviditet for at forebygge maternelle og føtale komplikationer, og den anbefalede behandling er antithyroid medicin (1).

Antithyroid medicin har været anvendt i klinisk praksis siden 1940'erne, og de tilgængelige præparerter omfatter Methimazol (MMI), dets prodrug Carbimazol (CMZ), samt Propylthiouracil (PTU). Bivirkninger ved brug af antithyroid medicin er kendt. Hyppigst er de mindre alvorlige hudreaktioner, mens de alvorligere bivirkninger som agranulocytose og leversvigt er sjældne. Hos ikke-gravide er MMI førstevalgsbehandling grundet en bedre farmakokinetisk profil og mindre alvorlige bivirkninger. Ved brug af antithyroid medicin hos gravide er der imidlertid supplerende overvejelser herunder risikoen for teratogene bivirkninger.

Fra kasuistik til observationelle studier

En kasuistik i 1972 beskrev første gang tilfælde af aplasia cutis efter at moderen havde været i behandling med MMI i graviditeten. Efterfølgende blev flere og flere cases publiceret, som syntes at beskrive de samme typer af svære misdannelser (aplasia cutis, choanal atresi, øsofagusatresi samt andre svære gastrointestinale malformationer), og en MMI/CMZ embryopati blev antaget i slutningen af 1990erne (2). Anbefalingen på daværende tidspunkt var at anvende

PTU i tidlig graviditet grundet risikoen for medfødte misdannelser ved MMI. I 2011 blev det første observationelle studie publiceret, og siden er flere kommet til. Et stort japansk studie i 2012 viste, at MMI var associeret med 2% ekstra tilfælde af medfødte misdannelser, hvorimod der ikke var nogen risiko forbundet med PTU (2). Vi gennemførte året efter et dansk nationalt register-baseret studie, som inkluderede alle børn født i Danmark fra 1997-2008 (2). Også i dette studie var MMI/CMZ forbundet med en øget risiko for medfødte misdannelser i en række organsystemer. Som et nyt fund var der også en øget risiko for medfødte misdannelser ved brug af PTU. Det drejede sig om misdannelser i ansigts- og halsregionen og i urinvejene, og disse misdannelser fremstod mindre alvorlige.

Retningslinjer for klinisk praksis

De observationelle fund udfordrede de kliniske retningslinjer, og da disse blev revideret i 2016-2017, var anbefalingen fortsat brug af PTU til behandling af hyperthyroidisme i tidlig graviditet, men dertil kom overvejelserne om andre behandlingsmuligheder (1). Desuden overvejelser om hvorvidt antithyroid medicinsk behandling kunne undlades i de kritiske uger af tidlig graviditet hos udvalgte patienter (1). Graves' sygdom er grundet den autoimmune patogenese kendtegnet ved at fluktuere i sygdomsaktivitet, og de fleste patienter går i remission under behandling med antithyroid medicin. Dernæst er der risikoen for recidiv, og der er behov for studier, som specifikt belyser risikoen for recidiv under graviditet, hvor der almindeligvis ses en suppression af immunsystemet. Desuden stod det klart, at flere studier var afgørende for at vurdere den teratogene risiko ved brug af PTU,

og det var som led i overvejelserne om klinisk praksis ligeledes væsentligt at vurdere betydning af hyperthyroidisme hos den gravide *per se*.

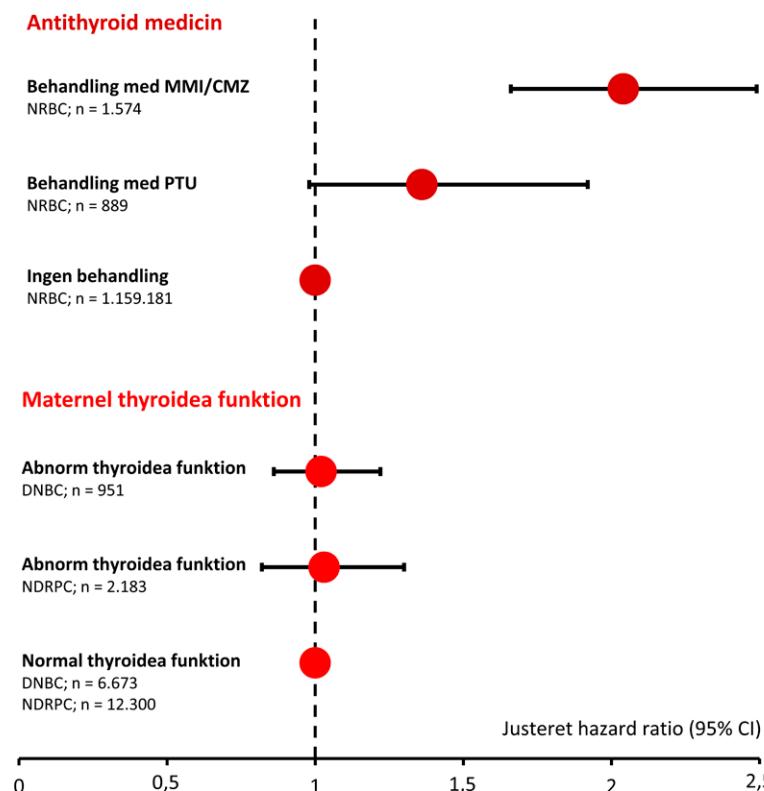
Nye resultater fra danske registre og fødselskohorter

Vi anvendte data fra danske nationale sundhedsregistre og fra to danske fødselskohorter til at undersøge disse kliniske aspekter (3). Vi udvidede den nationale register-baserede cohorte (NRBC) til at inkludere alle børn født i Danmark fra 1997-2016 og undersøgte sammenhængen mellem brug af anti-thyroid medicin og medfødte misdannelser i denne cohorte. Desuden inkluderede vi børn fra den danske nationale fødselskohorte (DNBC), etableret i år 1997-2003, og fra graviditetskohorten i Region Nordjylland (NDRPC), som blev etableret fra 2011-2015. I begge disse fødselskohorter havde moderen fået taget en blodprøve i tidlig graviditet, som var opbevaret i en biobank, og blev anvendt til måling af TSH og frit T4 på automatiseret udstyr (Dimension Vista og ADVIA

Centaur XP, Siemens Healthineers). Vi fulgte børnene op til 2-års alderen for diagnostik af misdannelse(r). Resultaterne (Figur 1, øvre del) viste i lighed med tidligere, at begge typer af antithyroid medicin var associeret med en øget risiko for medfødte misdannelser, men associationen med PTU var grænse-signifikant. I lighed med tidligere var MMI/CMZ associeret med misdannelser i en række af organ systemer, og disse malformationer var ofte alvorlige. Derimod var PTU konsistent associeret med misdannelser i ansigt-hals regionen og i urinvejene. Hvad angår moderens thyroidea funktion i tidlig graviditet, så tydede resultaterne fra de to uafhængige fødselskohorter ikke på, at abnorm thyroidea funktion (defineret ud fra metode- og graviditetspecifikke reference intervaller i hver cohorte (4,5)) var en risikofaktor for udvikling af medfødte misdannelser (Figur 1, nedre del).

Perspektiv

Resultaterne understøtter en øget risiko for medfødte misdannelser ved brug af antithyroid medicin



Figur 1. Risiko for medfødte misdannelser hos børn født af mødre, som var i behandling med antithyroid medicin i tidlig graviditet (øvre del) eller havde abnorm thyroidea funktion i tidlig graviditet (nedre del). Resultaterne er fra en dansk national register-baseret cohorte (NRBC), den danske nationale fødselskohorte (DNBC) og graviditetskohorten i Region Nordjylland (NDRPC) (3). Den justerede model inkluderede moderens alder, partet, etnicitet, rygning, body mass index og diabetes.

i tidlig graviditet, mens abnorm thyroidea funktion *per se* ikke synes at være betydende. Potentielle teratogene bivirkninger ved alle tilgængelige præparater nødvendiggør flere studier med detaljerede kliniske data i og omkring den tidlige graviditet for at vejlede klinisk praksis. Der er desuden behov for mere viden om de underliggende mekanismer og om muligt udvikling af nye behandlingsformer med færre bivirkninger.

Referencer

1. Alexander EK, Pearce EN, Brent GA, et al. 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and the Postpartum. *Thyroid* 2017;27:315–89.
2. Andersen SL, Andersen S. Antithyroid drugs and birth defects. *Thyroid Research* 2020;13:1-9.
3. Andersen SL, Knøsgaard L, Olsen J, et al. Maternal Thyroid Function, Use of Antithyroid Drugs in Early Pregnancy, and Birth Defects. *J Clin Endocrinol Metab* 2019;104:6040-8.
4. Laurberg P, Andersen SL, Hindersson P, et al. Dynamics and Predictors of Serum TSH and free T4 Reference Limits in Early Pregnancy: A Study Within the Danish National Birth Cohort. *J Clin Endocrinol Metab* 2016;101:2484–92.
5. Andersen SL, Andersen S, Carlé A, et al. Pregnancy Week-Specific Reference Ranges for Thyrotropin and Free Thyroxine in the North Denmark Region Pregnancy Cohort. *Thyroid* 2019;29:430–8.





XXXVIII Nordic Congress in Clinical Biochemistry

10-13th May 2022, Reykjavik, Iceland



3rd prize in the Astrup prize competition: Masse-spektrometri baseret proteom profiler til forskning og måske til fremtidens klinisk biokemi?

Nicolai J. Wewer Albrechtsen

Klinisk Biokemisk Afdeling, Rigshospitalet, København, Danmark

Lektor ved NNF Center for Protein Research, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet

Københavns Universitet, København, Danmark

nicolai.albrechtsen@sund.ku.dk



Flere frem for enkelte proteiner i blodet?

Man har siden antikken vidst at blodet indeholder vigtig information om vores helbred. Nutidens diagnostik af sygdomme er typisk baseret på måling af enkelt faktorer (eksempelvis proteiner) i blodet.

De fleste sygdomme påvirker dog ikke kun en enkelt markør men en langt række af markører. Kompositionen af sådanne kan også kaldes for en profil eller et fingeraftryk. De nuværende metoder i klinisk biokemi måler primært enkelte proteiner og ikke profiler af proteiner.

Kan vi forbedre forståelsen af sygdomme og særligt diagnostikken ved at måle proteiner profiler fremfor enkelte proteiner og hvordan kan dette i så fald gøres? En mulighed er masse-spektrometri. Masse-spektrometri baseret proteom analyser er en teknologi som kan måle tusindvis af proteiner *samtidigt* og er foruden i sagens natur 'unbiased' i modsætning til antistofbaseret metoder som afhænger af genkendelsen af en specifikke epitoper af den analyt man vil måle. De teknologier som anvendes til proteom analyser har været lysår bagud ift. eksempelvis next generation sequencing som anvendes i genetikken. De seneste års gennembrud i teknologiudvikling, streamlined prøveforberedelse og bioinformatik har nu muliggjort at man kan udføre robuste proteom analyser af blot 1 μ L plasma – vi kalder det for 'mass-spectrometry based plasma proteomic profiling' (1, 2).

Proteom analyser i metabolisk forskning

Masse-spektrometri baseret proteom analyser har eksisteret i årevis og er særligt i cellebiologien anvendt

til at identificere og forstå sygdomsmekanismer (3). Vores tanke at man ved masse-spektrometri baseret analyser af plasma kan skabe indsigt i sygdomme og ved at analysere protein profiler fremfor enkelte proteiner kan man skabe en mere nuanceret forståelse af komplekse sygdomme som fedme, fedtlever og diabetes.

Vi har blandet andet anvendt masse spektrometri baseret proteom profiler til at undersøge hvordan overvægtskirurgi (roux-en Y gastric bypass surgery, RYGB) påvirker kroppens metabolisme. I et af disse studier monitorerede vi en række overvægtige personer med og uden type 2 diabetes før og 2 år efter RYGB (1). Med samtidig udvikling af et bioinformatisk software, Clinical Knowledge Graph (<https://github.com/MannLabs/CKG>) har vi kunne identificere kendte såvel som ukendte markører for insulin følsomhed samt ændringer i apolipoproteiner efter RYGB. Et overraskende fund er at selvom plasma proteomet mellem matchede overvægtige personer 'ligner hinanden' så er der dog en række protein profiler (særlig inflammatoriske) som er specifikke og som muliggør stratificering uafhængig af velkendte risikofaktorer som alder, køn, vægt, blodtryk, rygning, kolesterol og blodsukker. I et ikke publicerede studie fandt vi at proteom baseret stratificering af overvægtige personer (n~100) kunne forklare en 200% øget risiko for kontakt til det danske sundhedsvæsen (Landspatientregisteret). Der er ingen tvivl om dette kræver reproduction i større cohorte men jeg mener vores fund nu alligevel er inspirerende.

Et andet eksempel er fedtlever (NAFLD). NAFLD findes hos 25% af befolkningen, særligt hos overvægtige og personer med type 2 diabetes, og tidlig og akkurat diagnostik er urimelig vanskelig. I et studie

af personer med biopsi verificeret NAFLD (golden standard) fandt vi med proteom analyse flere markører for NAFLD(4). Plasma koncentrationen for en af disse markører (PIGR) kunne vi foruden demonstrere blev signifikant reduceret efter farmakologisk behandling af NAFLD. Fundene er siden da blev reproduceret i en større cohorte med 600 personer med alkoholisk betinget fedtlever (5). Med andre ord så finder vi med protein profiler tegn på NAFLD om dette kan have klinisk anvendelse er næste spørgsmål.

Jeg tror ikke der er nogen tvivl om at masse-spektrometri baseret proteom analyser i metabolisk forskning er kommet for at blive og kan give os en langt bedre

forståelse for komplikerede sygdomme som diabetes og fedtlever.

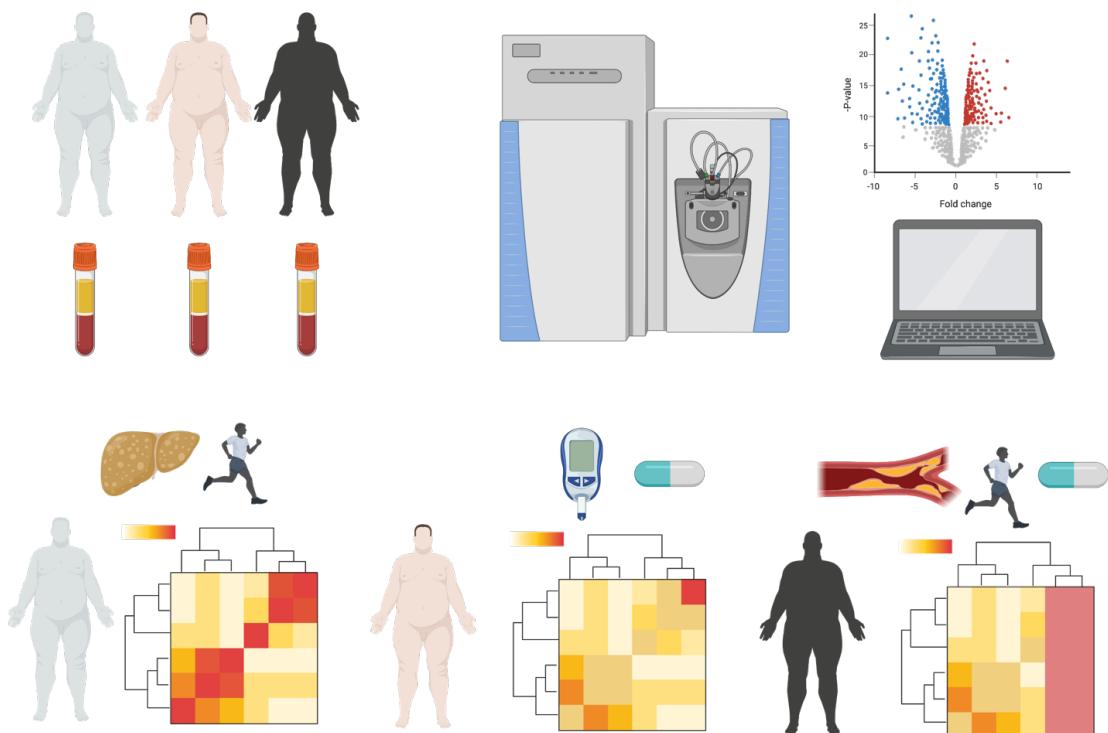
Et afgørende spørgsmål er om proteomic kan anvendes til mere end blot forskning?

Proteom analyser i fremtiden klinisk biokemi?

Masse-spektrometri baseret analyser anvendes i flere sammenhænge (eksempelvis måling af methylmalonat, NPU02780) i klinisk biokemi. Det gør proteom analyser ikke.

Proteom analyser har adskillige limitations; herunder sporbarhed, referenceinterval og absolut kvantivering. Hvad disse tre angår så mangler der grundige

Figur 1. Masse-spektrometri baseret proteom analyser af plasma. Figuren viser tre personer som får målt deres plasma proteom ved hjælp af masse-spektrometri baseret proteom analyse. Data bliver bearbejdet ved Clinical Knowledge Graph og resulterer patient klassifikation og forslag til behandlingsalgoritme. Figuren er ment som en skabelon til hvordan proteom analyser kunne anvendes i klinisk diagnostisk og behandling i fremtiden.



Acknowledgements: Jeg vil gerne takke Lylia Drici, Philipp Geyer, Lili Niu, Christine Rasmussen, Alberto Santos samt øvrige medforfatter og samarbejdspartnere på mine proteom projekter. Herudover vil jeg særlig takke Matthias Mann og Linda Hilsted for tillid og støtte til etablering af en proteom gruppe bestående af undertegnede, Peter Plomgaard og Christina Christoffersen på Klinisk Biokemisk Afdeling, Rigshospitalet. Novo Nordisk Fonden takkes for deres generøse støtte til min forskning.

studier og en 'definition' af et normalt proteom, altså et reference proteom. Det bør nævnes at flere af proteom analysernes børnesygdomme (eksempelvis reproducerebarhed og throughput) er blevet løst. Herudover skal man huske på at i modsætning til det humane genom så er det humane proteom faktisk ikke afdækket både hvad angår kompleksitet og antal (man forventer det humane proteom indeholder >100.000 proteiner).

Jeg tror der er flere muligheder for anvendelsen af det 'kliniske proteom' herunder både til personalized/stratified medicine men også **måske** forsimppling/forbedring af nuværende biokemi såsom diagnostik af M-komponent. Som alle andre metoder kan masse-spektrometri baseret proteom analyser næppestå alene i diagnostikken men måske denne teknologi kan bidrage til identifikation af nye og mere akkurate biomarkører samt måske danne fundamentet for blodprøve volumen 2; altså en holistisk og data drevet tilgang til sygdomsdiagnostik

Jeg mener ikke der er ingen tvivl. Vi må i fællesskab udforske og udfordre masse-spektrometri baseret proteom analyser i klinisk biokemi ellers gør nogen andre det.

Referencer

1. Wewer Albrechtsen NJ, Geyer PE, Doll S, et al. Plasma Proteome Profiling Reveals Dynamics of Inflammatory and Lipid Homeostasis Markers after Roux-En-Y Gastric Bypass Surgery. *Cell Syst.* 2018;7:601-12.
2. Geyer Philipp E, Kulak Nils A, Pichler G, et al. Plasma Proteome Profiling to Assess Human Health and Disease. *Cell Syst.* 2016;2:185-95.
3. Aebersold R, Mann M. Mass-spectrometric exploration of proteome structure and function. *Nature* 2016;537:347-55.
4. Niu L, Geyer PE, Wewer Albrechtsen NJ, et al. Plasma proteome profiling discovers novel proteins associated with non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Syst Biol.* 2019;15:e8793.
5. Niu L, Thiele M, Geyer PE, et al. A paired liver biopsy and plasma proteomics study reveals circulating biomarkers for alcohol-related liver disease. *bioRxiv* (**doi:** <https://doi.org/10.1101/2020.10.16.337592>).



Foto: Henrik Alfthan.

Integration at its best

Make HbA_{1c} testing part of your
Sysmex routine workflow with the Tosoh
G11 glycohaemoglobin analyser



TOSOH HLC-723 G11 Analyser is manufactured by Tosoh Corporation (Japan) - www.tosoh.com

For further information please visit:
www.sysmex-nordic.com

Forhøjet plasma B12 – Supersund eller syg?

Johan Frederik Håkonsen Arendt, Ebba Nexø

Blodprøver og Biokemi, Aarhus Universitetshospital, Danmark

johaaren@rm.dk

e.nexo@dadlnet.dk



Indledning

I efterkrigstidens rivende medicinske udvikling blev det muligt at måle koncentrationen af vitamin B12 i blo-

det, P-Vitamin B12. Det var en mindre revolution for diagnostikken af B12-mangel. Nu kunne en sygdom der var lig med en langsom og pinefuld død både diagnosticeres (lavt P-Vitamin B12) og behandles med stor succes.

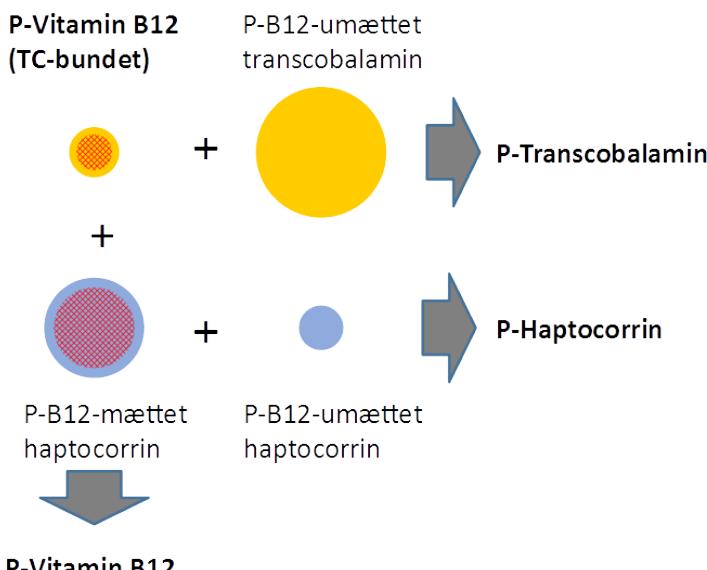
Allerede i 1957 dukkede så det næste spørgsmål op - er det farligt at have forhøjet P-Vitamin B12? Forhøjet P-Vitamin B12 blev rapporteret hos patienter med primær og metastatisk leverkræft (1). Siden da er der publiceret talrige cases med uventet høj værdi for P-Vitamin B12. Studierne har selvsagt bidraget til den viden vi har i dag, men det er fortsat

en udfordring at tolke det enkelte patientsvar med forhøjet P-Vitamin B12.

Inden for de senere år er der publiceret større og mere detaljerede undersøgelser om forhøjet P-Vitamin B12. Med afsæt i disse studier, vil vi forsøge at belyse problemstillingerne: Hvor hyppigt er forhøjet P-Vitamin B12? Hvad skyldes det, herunder hvilke sygdomme der er associeret til forhøjet P-Vitamin B12? Og hvordan kan laboratoriet bedst muligt rådgive sine brugere?

Nomenklatur indenfor B12-området er ikke entydig. I Tabel 1 har vi samlet hyppigt anvendte navne, samt de forkortelser vi benytter i denne artikel.

Analyse af P-Vitamin B12 og dets bindingsproteiner
B12 i plasma findes i forskellige former og er proteinbundet. Koncentrationen måles ved kompetitiv prote-inbindingsmetoder efter at B12 er frigivet og omdannet til den samme form, cyano-B12. Der er i dag udviklet



Figur 1. P-Vitamin B12 og dets bindingsproteiner.

Figuren viser, at P-Vitamin B12 (rød) er summen af B12-mættet transcobalamin og B12-mættet haptocorrin. Førstnævnte kan måles som P-Vitamin B12(TC-bundet). P-Transcobalamin (gul) er summen af B12-mættet og B12-umættet transcobalamin. P-Haptocorrin (blå) er summen af B12-mættet og B12-umættet haptocorrin. Koncentration af alle de nævnte parametre kan fastlægges på baggrund af de analyser, der udføres på Aarhus Universitetshospital (anført med fremhævet skrift), idet B12-umættet transcobalamin, B12-mættet haptocorrin og B12-umættet haptocorrin kan beregnes ud fra de målte parametre. Cirkernes størrelse angiver den omtrentlige indbyrdes koncentration.

specialanalyser til måling af bindingsproteinerne, transcobalamin og haptocorrin.

I dag udføres P-Vitamin B12-målinger på automatiske udstyr, og man kan let blive fremmedgjort i forhold til hvad der måles og hvordan det sker. Men skal man fra laboratoriets side kunne rådgive brugerne omkring et forhøjet niveau af P-Vitamin B12 må disse forhold genopfriskes.

Vitamin B12 cirkulerer i forskellige former (hydroxy-, methyl-, 5'-deoxyadenosyl-, og cyano-B12) bundet til ét af to plasma-proteiner, haptocorrin eller transcobalamin. Intracellulært omdannes disse B12-former til aktive co-enzymer i omdannelsen af methylmalonyl-CoA til succinyl-CoA og i omdannelsen af homocystein til methionin, hvori folat også indgår i sidstnævnte reaktion (2).

Hos personer der ikke er i B12-behandling, binder haptocorrin ca. 80% af det cirkulerende B12 og er under normale forhold stort set mættet med B12 (Figur 1). Haptocorrins funktion er fortsat ukendt. De resterende ca. 20% er bundet til transcobalamin, og dette kompleks kan optages af alle kroppens celler. Komplekset kaldes også for holo-transcobalamin, P-Vitamin B12(TC-bundet), aktivt B12 eller blot holoTC. Transcobalamin har under fysiologiske forhold en høj umættet B12-bindingskapacitet (Figur

1). Ved indgift af farmakologiske doser af B12 vil transcobalamin blive mættet med B12, og koncentrationen af P-Vitamin B12(TC-bundet) vil stige (Figur 2). Indgives hydroxo-B12, vil der desuden kunne ses en markant stigning i P-Vitamin B12 fordi denne form af vitaminet kan binde sig til histidin-residues på albumin.

Første skridt i P-Vitamin B12-analysen er en frigørelse af vitaminet fra bindingsproteinerne og omdannelse til den samme form af B12. Det sker ved at tilsætte en meget stærk basisk oplosning samt cyanid-ioner. Basen ødelægger transcobalamin og haptocorrin, og cyanid omdanner alle B12-former til cyano-B12. Herefter måles cyano-B12 ved et simpelt kompetitivt proteinbindingsassay. Bindingsproteinet er intrinsic factor, det samme protein som i mave-tarmkanalen sikrer B12-optagelsen. Selv om det er de samme byggesten der indgår i stort set alle analysekiter er designet forskelligt. Det har gennem tiderne givet vanskeligheder med akkuratessen på tværs af metoder og ført til anvendelse af laboratoriespecifikke referenceintervaller. Variationer i analysedesign kan desuden give metodespecifikke analytiske problemer (3, 4). Vi vil kort omtale disse i afsnittet om laboratoriets bidrag ved udredning af et forhøjet P-Vitamin B12.

Tabel 1. Nomenklatur for B12-relaterede analyser.

Fremhævede analyser udføres under det anførte navn på Blodprøver og Biokemi Aarhus Universitetshospital.

NPU nr	NPU Navn	Synonymer	Anvendt i artiklen
NPU01700	P-Cobalamin, pmol/L	P- Vitamin B12/B12	P-Vitamin B12
NPU02317	P-Transcobalamin-1, pmol/L	P-Haptocorrin/ /R-binder/ Transcobalamin I og III/TCI/HC	P-Haptocorrin
NPU03605	P-Transcobalamin-2; pmol/L	P-Transcobalamin /Transcobalamin II/ TCII/TC	P-Transcobalamin
NPU27125	P-Holo-Transcobalamin-2, pmol/L	P-Vitamin B12(TC-bundet)/Aktivt B12/ HoloTC	P-Vitamin B12(TC-bundet)
NPU28413	P-Intrinsic faktor-antistof (IgG), arb.stofk	P-Intrinsic factor auto-antistoffer/ IF-IgG-Ab	P-Intrinsic faktor-antistof (IgG)
NPU02780	P-Methylmalonat, µmol/L	P-MMA	P-Methylmalonat

Oplysninger om NPU numre og hertil hørende analysenavne er hentet fra:

http://www.labterm.dk/Enterprise%20Portal/NPU_search.aspx

Oplysninger om analyser udført på Blodprøver og Biokemi, Aarhus Universitetshospital (fremhævet skrift) er hentet fra:

<https://www.auh.dk/om-auh/afdelinger/blodprøver-og-biokemi/Til-fagfolk/analysefortegnelsen/Biokemi>.

Det kan være vanskeligt at få overblik over fordelingen af B12-mættet og B12-umættet transcobalamin og haptocorrin, dels på grund af skiftende nomenklatur, og dels på grund af de varierende analysemетодer der er anvendt gennem tiderne. En entydig nomenklatur for de B12-bindende proteiner blev introduceret i 1980'erne, men "gamle" navne er fortsat i brug med betegnelserne R-binder, transcobalamin I og III for haptocorrin og transcobalamin II for transcobalamin. De mange navne er samlet i Tabel 1, og Figur 1 viser fordelingen af B12-mættet og B12-umættet transcobalamin og haptocorrin samt hvilke parametre der i dag måles på Blodprøver og Biokemi, Aarhus Universitetshospital. B12-mættet transcobalamin måles i Danmark under navnet P-Vitamin B12(TC-bundet), og vi anvender dette navn i denne artikel. Måling af P-Transcobalamin og P-Haptocorrin har erstattet tidligere knap så valide analyser, der alene omfattede måling af umættet transcobalamin og

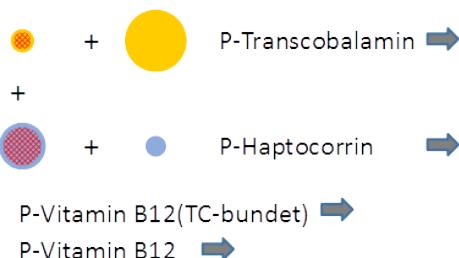
umættet haptocorrin, eller summen af disse. Koncentrationen af de umættede bindingsproteiner kan fortsat beregnes ud fra måling af P-Vitamin B12, P-Vitamin B12(TC-bundet), P-transcobalamin og P-Haptocorrin (Figur 1).

Hvor hyppigt er et forhøjet P-Vitamin B12?

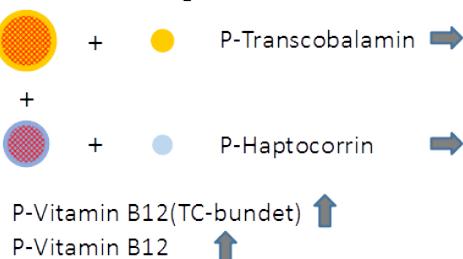
På et hospitalslaboratorium, der modtager prøver fra både hospital og almen praksis vil omkring 10-15% af voksne (5) have et B12-niveau over øvre referencegrænse. Hos ca. halvdelen af patienter med forhøjet P-Vitamin B12 er årsagen farmakologisk behandling med B12 (6, 7).

Hyppigheden af forhøjet P-Vitamin B12 afhænger af hvilken cut-off der anvendes, og hvilke patientpopulationer der undersøges. Der findes ingen studier, der longitudinelt undersøger hvor mange patienter, der udvikler eller har vedvarende forhøjet P-Vitamin B12, dvs. der findes kun tværsnitsundersøgelser med

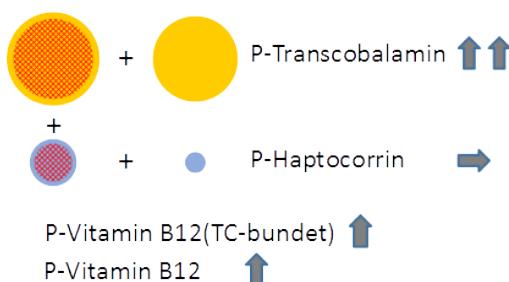
Normale forhold



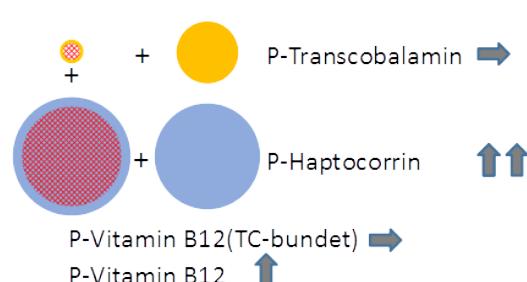
B12-behandling



Højt P-Transcobalamin



Højt P-Haptocorrin



Figur 2. P-Vitamin B12 og dets bindingsproteiner ved normalt og forhøjet P-Vitamin B12.

Figuren viser fordelingen af hhv. B12-umættet og B12-mættet haptocorrin og B12-umættet og B12-mættet transcobalamin hos patienter med hhv. normalt P-Vitamin B12; forhøjet P-Vitamin B12 forårsaget af behandling med B12; forhøjet P-Vitamin B12 forårsaget af høj koncentration af P-Transcobalamin; forhøjet P-Vitamin B12 forårsaget af høj koncentration af P-Haptocorrin. De tilsvarende ændringer i plasmakoncentrationen af de angivne parametre er vist med pile: vandret pil angiver ingen ændring, lodret pil angiver øgning. Farvekode er som for Figur 1.

Allergy and autoimmunity testing – on a robust automated platform

Phadia™ Laboratory Systems offers LAS* connection of Phadia™ 250 and Phadia™ 1000 instruments to the main LAS suppliers

Regardless of your choice, our fully automated systems increase your operational efficiency in every way.

- 550+ ImmunoCAP™ allergen sIgE tests
- 100+ ImmunoCAP™ allergen component sIgE tests
- 20+ EliA™ autoimmunity tests
- ImmunoCAP™ Tryptase
- ImmunoCAP™ Specific sIgG
- ImmunoCAP™ Specific IgG4



We can connect with
major LAS suppliers*

Find out more at thermofisher.com/phadia

ThermoFisher
SCIENTIFIC

*Consult your local Thermo Fisher Scientific representative for information about availability of specific connections in your market.

cobas® pro integrated solutions

Simplicity meets Excellence



**Automated
maintenance**



**Predictive
loading list**



**cobas®
SonicWash**

Roche Diagnostics A/S
Industriholmen 59
DK - 2650 Hvidovre
Tlf. 36 39 98 98

www.roche.dk/diagnostics

MC-DK-00084



 **Loading
on the fly**

 **cobas[®]
AutoCal**

 **cobas[®]
mobile solution**

cobas[®]

prævalensmål. Hvis forhøjet P-Vitamin B12 defineres som over øvre referencegrænse, varierer prævalensen i en blandet population af hospitalspatienter fra 9 til 18% (6, 8, 9). Inkluderet patienter fra almen praksis og ekskluderes patienter i B12-behandling er prævalensen estimeret til at være mellem 6 og 12% (7, 10). Prævalensen er 3.5% blandt patienter fra almen praksis, der ikke er i B12-behandling (11). I disse studier varierer øvre referencegrænse fra 570 til 700 pmol/L.

Hvad kan forklare et forhøjet P-Vitamin B12?

Forhøjet P-Vitamin B12, der ikke skyldes B12-behandling eller metodologiske forhold, kan ses ved tilstande hvor produktionen af transcobalamin og/eller haptocorrin er forhøjet.

Den altovervejende forståelse er, at et forhøjet P-Vitamin B12 ikke kan fremkalde sygdom, men at man ved visse sygdomme undertiden vil finde et forhøjet P-Vitamin B12. Størst fokus har været på den øgede dannelsel af de B12-bindende proteiner ved forskellige kræftsygdomme, og af disse, er de hæmatologiske kræftformer bedst undersøgt. Den

følgende gennemgang refererer til vores review fra 2013 (5) samt udvalgt originallitteratur.

De hæmatologiske maligne og præ-maligne lidelser er velbeskrevne som årsager til forhøjet P-Vitamin B12. Den underliggende forklaring er øget produktion af haptocorrin fra prolifererende leukocytter. Bedst beskrevet er kronisk myeloid leukæmi, hvor P-Haptocorrin og P-Vitamin B12 stiger ved øget sygdomsaktivitet og således også er markører for sygdomsrelaps, -remission og -progression, ligesom stigning af disse er negative prognostiske markører (5).

De mange andre hæmatologiske sygdomme som er associeret med forhøjet P-Vitamin B12 tæller akut myeloid leukæmi (ikke undersøgt ved børn), kronisk lymfatisk leukæmi, non-Hodgkin lymfom, myelodysplastisk syndrom, polycythaemia vera og forskellige eosinofile lidelser. Disse sygdomme er knap så velbeskrevne som kronisk myeloid leukæmi, men det antages at mekanismen er frigivelse af haptocorrin fra prolifererende blodceller, især granuloctyter (5).

En lang række andre kræftformer er også associeret



Sandavágur church (Sandavágs kirkja) in Sandavágur, Faroe Islands. Photo: Henrik Alfthan.

til forhøjet P-Vitamin B12. Store datamaterialer fra Danmark (7, 12), Storbritannien (11) og Letland (10) viser at forhøjet P-Vitamin B12 kan være en markør for okkult cancer. Studierne viser, at 5-7 % af patienter med forhøjet P-Vitamin B12 får en kræftdiagnose indenfor 1 år efter måling. Til sammenligning får 1-2% af patienter med normal P-Vitamin B12 en kræftdiagnose indenfor 1 år efter måling. I disse studier er forhøjet P-Vitamin B12 associeret til kræft i leveren, pancreas, ventriklen, nyrerne og lungerne foruden de nævnte hæmatologiske kræftformer. Desuden er forhøjet P-Vitamin B12 associeret til bryst-, ovarie- prostata-, tyktarms- og øsophaguskræft i mindre undersøgelser (5).

Det er vigtigt at understrege, at langt fra alle patienter med de omtalte kræftformer vil have et forhøjet P-Vitamin B12. Måling af P-Vitamin B12 eller P-Haptocorrin kan derfor ikke anvendes som en diagnostisk cancermarkør, som også understreges af to nylige studier af patienter med leverkræft (13) og lungekræft (14). Derfor anbefales heller ikke systematisk screening for kræft hos patienter med forhøjet P-Vitamin B12. Denne anbefaling understøttes af ét studie der fandt, at de fleste patienter med forhøjet P-Vitamin B12 og cancer, uagter deres forhøjede P-Vitamin B12, allerede var under mistanke for cancer (12). Yderligere fandt et andet studie, at patienter med forhøjet P-Vitamin B12 og cancer oftest også havde andre biokemiske abnormiteter, primært de hæmatologiske, lever- og/eller nyretal (10). Derfor må **forhøjet P-Vitamin B12 som et tilfældigt fund ikke tillægges større betydning** for den enkelte patient. Omvendt vil forhøjet P-Vitamin B12 bestyrke mistanken om alvorlig sygdom hos en patient hvor dette allerede mistænkes.

Et forhøjet P-Vitamin B12 hos kræftpatienter er desuden associeret med dårlig prognose (5) og risiko for venøse tromber (15). Ligeledes er det vist at sygdomsaktivitet vil afspejles i værdier for P-Vitamin B12/P-Haptocorrin hos patienter med kronisk myeloid leukæmi og i sjældne tilfælde hos patienter med leverkræft (5).

Benigne sygdomme i leveren og nyrer er også associeret til forhøjet P-Vitamin B12. For benigne leversygdomme er forklaringen på det forhøjede P-Vitamin B12 frigivelse af B12 fra ødelagte celler og/eller manglende optagelse i leveren af B12-mættet haptocorrin (5). Da nyrerne filtrerer og re-absorberer B12-mættet transcobalamin, kan ændret filtration og

reabsorption på grund af nyresygdom give forhøjet koncentration af dette (måles som forhøjet P-Vitamin B12(TC-bundet)) og dermed et forhøjet P-Vitamin B12 (5, 6, 8).

Der findes en række lidelser hvor inflammation formodentlig spiller en rolle for årsagen til forhøjet P-Vitamin B12. Bedst beskrevet er autoimmun lymfoproliferativt syndrom, hvor et forhøjet P-Vitamin B12 indgår i de diagnostiske kriterier. Det forhøjede P-Vitamin B12 skyldes, at lymfocytter danner haptocorrin i et autoimmunt respons (5). Tilstanden er sjælden og diagnosticeres typisk i barnealderen.

Hos patienter med gigtsygdommen Mb. Still er det sandsynligt, at makrofager står bag en øget produktion af transcobalamin og deraf forhøjet P-Vitamin B12 (5).

Endelig er forhøjet P-Vitamin B12 fundet hos patienter med inflammatoriske lidelser som rheumatoid artritis, systemisk lupus erythematosus, Mb. Crohn og colitis ulcerosa (5), uden at ændringerne i P-Transcobalamin og P-Haptocorrin er tilfredsstilende beskrevet.

Inflammation på baggrund af infektion kan også give forhøjet P-Vitamin B12 og er beskrevet for HIV, gastrointestinale infektioner (5) samt for pneumoni (16). Her kendes heller ikke ændringerne i P-Transcobalamin og P-Haptocorrin, men P-Vitamin B12 kan normaliseredes efter en overstået infektion, som belyst i et studie af patienter med pneumoni (16).

Nogle studier har beskrevet forekomst af makroformer af bindingsproteinerne. P-Vitamin B12(TC-bundet) omsættes normalt meget hurtigt, men hvis det cirkulerer bundet til f.eks. IgG (17) eller sin receptor sCD320 (18) forlænges halveringstiden, og koncentrationen stiger både for P-Transcobalamin, for P-Vitamin B12(TC-bundet) og derfor også for P-Vitamin B12. Vores aktuelle viden om eventuelle sygdomsassociationer og makroformer af P-Transcobalamin og P-Haptocorrin er fortsat mangelfuld.

Laboratoriets bidrag ved udredning af patienter med forhøjet P-Vitamin B12

Laboratoriet afgiver et forhøjet P-Vitamin B12 uden kommentar og uden fortynding af prøver, der ligger over målegrænsen. Hvis laboratoriet herefter kontaktes, skal det afgøres om der er mistanke om alvorlig sygdom hos den enkelte patient og dermed behov for videre klinisk udredning. Kliniker og laboratorium må derefter i samarbejde afgøre om det er relevant i

det enkelte tilfælde at udelukke analytisk fejl og om evt. eksakt koncentrationsbestemmelse og måling af yderligere B12-relaterede biomarker kan bidrage til det videre patientforløb.

Henvendelse til laboratoriet fra klinikken vil ofte tage afsæt i spørgsmål som ”er der noget galt med analysen? - resultatet passer ikke med klinikken”, ”hvad er den kliniske relevans af forhøjet P-Vitamin B12?” og ”skal det yderligere udredes?”. Håndtering af disse spørgsmål præsenteres i det følgende.

Indledningsvis skal det bemærkes, at P-Vitamin B12 fysiologisk er højere hos børn (2), og at forhøjet P-Vitamin B12 kun meget sjældent (se ovenfor) er marker for underliggende sygdom hos børn, og ikke er fundet forhøjet ved de hyppigste solide børnetumorer (19). Litteraturen tillader ikke at definere et eksakt cut-off for et ”patologisk” forhøjet P-Vitamin B12, men det vil oftest være meget forhøjede P-Vitamin B12-værdier der kan give anledning til yderligere overvejelser.

1. Den hyppigste årsag til et forhøjet P-Vitamin B12 er, at patienten er - eller fornyelig har været - i vitamin B12-behandling i form af højdosistabletter med >500 µg B12 eller B12-injektioner (6, 7). Vær opmærksom på, at tabletter med højdosis B12 kan købes online og i diverse helsekostforretninger, og dermed ikke altid er udskrevet på recept. Forhøjet P-Vitamin B12 hos disse patienter skyldes behandlingen og skal ikke yderligere udredes. T værtimod skal det understreges, at måling af P-Vitamin B12 ikke kan anvendes til behandlingskontrol. Behandling bør alene rettes mod mest mulig lindring af patientens symptomer.

2. Hvis henvendelsen drejer sig om en patient, der trods andre tegn på B12-mangel har et forhøjet P-Vitamin B12, må den videre udredning gå ad to veje. Afklaring af de analytiske forhold samt sikring af at patienten bliver korrekt diagnosticeret. Sidstnævnte kan ofte klares ved måling af P-Methylmalonat og/eller P-Vitamin B12(TC-bundet) og P-Intrinsic faktor-antistof (IgG). En høj P-Methylmalonat og/eller lav P-Vitamin B12(TC-bundet) understøtter B12-mangeldiagnosen, og tyder i samspil med et forhøjet P-Vitamin B12 på, at der kan være et analyseteknisk problem med B12-analysen, eller, i meget sjældne tilfælde ved fremskreden kronisk myeloid leukæmi, forhøjet P-Vitamin B12 grundet forhøjet P-Haptocorrin samtidig med B12-mangel (5). Forekomst af P-Intrinsic faktor-antistof

(IgG) er diagnostisk for vitamin B12-mangelsygdommen perniciøs anæmi (med eller uden anæmi) og understøtter også, at der kan være analysetekniske problemer med B12-analysen.

Ved afklaring af de - i øvrigt meget sjældent forekommende - analysetekniske årsager er det første skridt at undersøge, om prøven har manglende lineær fortynding, og om der opnås en helt anden værdi, hvis prøven analyseres på et laboratorium, der anvender en anden platform for analysen. Understøtter disse resultater et metodologisk problem må interessen rettes mod forekomst af meget høje koncentrationer af P-Transcobalamin og/eller P-Haptocorrin. Bedst dokumenteret er problemer med prøver, hvor koncentrationen af P-Haptocorrin er exceptionelt høj (>200 gange øvre referenceteværdi), som det vil kunne ses hos patienter med kronisk myeloid leukæmi eller ved visse leverkræftformer. Tilstedeværelsen af intakt haptocorrin vil afhængig af analyseplatform kunne resultere i falsk for høje eller falsk for lave værdier (4). Som omtalt er det i dag muligt at måle P-Haptocorrin, og dermed at få endelig afklaret om proteinet kan være årsag til problemet.

Auto-antistoffer mod intrinsic factor kan give problemer, fordi de kan reagere med det intrinsic factor, der anvendes i analysen for P-Vitamin B12, selvagt navnlig ved høje titre af P-Intrinsic faktor-antistof (IgG) (3).

3. Som anført ovenfor er en lang række alvorlige sygdomme associeret til forhøjet P-Vitamin B12. Ved klinisk mistanke om alvorlig sygdom hos patienten anbefales det, at den videre udredning rettes mod de(n) specifikke sygdom(me). Der er almindeligvis ikke grund til yderligere udredning af de underliggende forandringer i koncentrationen af P-Transcobalamin/P-Haptocorrin. En undtagelse er de - yderst sjældne - tilfælde, hvor der er et klinisk ønske om at kunne anvende måling af P-Vitamin B12 eller P-Haptocorrin/P-Transcobalamin til monitorering af sygdomsforløbet (5). I disse tilfælde skal prøven - om nødvendigt - fortyndes så koncentrationen af P-Vitamin B12 kan fastlægges, og desuden kan måling af P-Haptocorrin/P-Transcobalamin komme på tale. Desuden kan en yderligere undersøgelse selvagt være af videnskabelig værdi.

4. Et forhøjet P-Vitamin B12, der ikke skyldes en af de ovenstående grunde, betragtes som et tilfældigt

fund og giver almindeligvis ikke anledning til yderligere udredning. Undertiden vil den rekvirerende læge ud fra en samlet vurdering af patientens situation ønske at få afklaret årsagen til det forhøjede P-Vitamin B12. I disse situationer bør der i første omgang tilbydes fortyndning af P-Vitamin B12 for prøver hvor resultatet er over øverste målegrænse, og eventuelt yderligere udredning kan overvejes med en eller flere af de nedenfor omtalte specianalyser.

Specianalyser ved udredning af patienter med forhøjet P-Vitamin B12

Et forhøjet P-Vitamin B12, der ikke skyldes B12-behandling, peger på en underliggende ændring i P-Haptocorrin og/eller P-Transcobalamin.

Som omtalt ovenfor vil der kun yderst sjældent være behov for en videre udredning af et forhøjet P-Vitamin B12. Er det aktuelt, kan det anbefales at rådføre sig med Blodprøver og Biokemi, Aarhus Universitetshospital, Danmark. Dette laboratorium udbyder specianalyser indenfor B12-markører og har ekspertise i rådgivning af såvel klinikere som kolleger fra andre laboratorier. I Tabel 1 ses hvilke analyser der aktuelt udbydes. Specianalyserne kan afklare, om det forhøjede P-Vitamin B12 skyldes en øget koncentration af P-Transcobalamin eller P-Haptocorrin - eller begge - og kan indirekte afdække B12-mætningsgraden af proteinerne. I Figur 2 ses illustreret sammenhængen mellem et forhøjet P-Vitamin B12 og ændringer i P-Transcobalamin og P-Haptocorrin. Tolkning af resultatet vil afhænge af graden af koncentrationsændring. I nogle tilfælde kan analyserne bidrage til yderligere afklaring af patienten, men som oftest vil resultatet hovedsageligt være af akademisk interesse.

Undersøgelse af makro-transcobalamin/haptocorrin foretages aktuelt ikke på Blodprøver og Biokemi, Aarhus Universitetshospital. Undersøgelse af disse makro-former udgør et særskilt problem. Publicerede studier viser hyppig forekomst, men data er baseret på måling af P-Vitamin B12 før og efter PEG (polyethylen glycol)-fældning (3, 17). Rationalet er, at PEG vil fælde immunkomplekser. Men metoden er uegnet. PEG-præcipitering fanger ikke blot makromolekyler, men også B12-bundet til transcobalamin, P-Vitamin B12(TC-bundet) (20). Der findes i dag ikke nogen standardiseret metode til undersøgelse for makro-transcobalamin/haptocorrin. Det bedste bud vil være

at udføre gelfiltration med efterfølgende bestemmelse af om de B12-bindende proteiner elueres som haptocorrin og transcobalamin i en kontrolprøve, eller om de elueres med en højere molekylvægt som udtryk for tilstedeværelse af makromolekyler (18).

Meget er uafklaret

Der resterer mange ubesvarede spørgsmål om forhøjet P-Vitamin B12 hos patienter. Dels ved vi kun meget lidt om de cellulære, patofysiologiske processer, der giver ophav til forskydning i P-Transcobalamin og P-Haptocorrin og dermed forhøjet P-Vitamin B12. Dels ved vi meget lidt om flere af de kliniske problemstillinger. Hvor mange af de patienter, der har forhøjet P-Vitamin B12 kan tilskrives underliggende sygdom? Hvad med patienter med vedvarende forhøjet P-Vitamin B12 – er de i risiko for at udvikle bestemte sygdomme? Og kan forhøjet P-Vitamin B12 som markør inkluderes i kliniske retningslinjer for de relevante sygdomme, og dermed muligvis lede til bedre og hurtigere diagnostik?

Konklusion

Forhøjet P-Vitamin B12 er et hyppigt fund hos patienter henvist såvel fra hospital som fra almen praksis. Ofte skyldes det en igangværende eller nylig afsluttet behandling med vitaminet, og er derfor helt som forventet. Andre gange må et forhøjet P-Vitamin B12 tilskrives tilstedeværelse af kendte såvel som endnu ikke erkendte alvorlige sygdomme, men vi ved fortsat alt for lidt om disse sammenhænge. Det samme gælder vores viden i forhold til de mange patienter, hvor der ikke findes en forklaring på et forhøjet P-Vitamin B12. Der resterer således store "knowledge gaps" indenfor området.

Vi vil derfor konkludere, at selv om et forhøjet P-Vitamin B12 ofte betragtes som et tilfældigt fund uden betydning for den enkelte patient, kan det i nogle tilfælde kræve laboratoriets og klinikerens opmærksomhed og yderligere udredning kan være på sin plads, ikke mindst når det kan indgå som led i forskningsprojekter.

Tak til

Tak til Tina Parkner, Søren Andreas Ladefoged og Holger Jon Møller, Blodprøver og Biokemi, Aarhus Universitetshospital, for kritisk gennemlæsning af artiklen.

Referencer

1. Grossowicz N, Hochman A, Aronovitch J, et al. Malignant growth in the liver and serum-vitamin-B12 levels. *Lancet* 1957;272:1116-7.
2. Green R, Allen LH, Bjørke-Monsen AL, et al. Vitamin B12 deficiency. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17040.
3. Merrigan SD, Yang DT, Straseski JA. Intrinsic factor blocking antibody interference is not detected in five automated cobalamin immunoassays. *Am J Clin Pathol* 2014;141:702-5.
4. Lildballe DL, Hardlei TF, Allen LH, et al. High concentrations of haptocorrin interfere with routine measurement of cobalamins in human serum and milk. A problem and its solution. *Clin Chem Lab Med* 2009;47:182-7.
5. Arendt JF, Nexo E. Unexpected high plasma cobalamin: Proposal for a diagnostic strategy. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:489-96.
6. Arendt JF, Nexo E. Cobalamin Related Parameters and Disease Patterns in Patients with Increased Serum Cobalamin Levels. *PLoS One* 2012;7:e45979.
7. Arendt JF, Pedersen L, Nexo E, et al. Elevated Plasma Vitamin B12 Levels as a Marker for Cancer: A Population-Based Cohort Study. *J Natl Cancer Inst* 2013;105:1799-805.
8. R, Vasireddy H, Aurangzeb I, et al. High serum cobalamin levels in the clinical setting - clinical associations and holo-transcobalamin changes. *Clin Lab Haematol* 2001;23:365-71.
9. Brah S, Chiche L, Mancini J, et al. Characteristics of patients admitted to internal medicine departments with high serum cobalamin levels: Results from a prospective cohort study. *Eur J Intern Med* 2014;25:2.
10. Gavars D, Perminov D, Tauckels E, et al. Association of elevated vitamin B(12) with oncohematological diseases in a cohort of 79,524 patients from Latvia. *Exp Oncol* 2019;41:357-62.
11. Arendt JF, Sorensen HT, Horsfall LJ, et al. Elevated vitamin B12 levels and cancer risk in UK primary care: a THIN database cohort study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2019;28:814-821.
12. Ryg J, Nybo M, Hallas J. Cancer incidence in persons with elevated cobalamin levels. *Eur J Clin Invest* 2013;43:557-61.
13. Simonsen K, Rode A, Nicoll A, et al. Vitamin B12 and its binding proteins in hepatocellular carcinoma and chronic liver diseases. *Scand J Gastroenterol* 2014;49:1096-102.
14. Lo-Bisgaard T, Espelund U, Frystyk J, et al. Vitamin B12 and its binding proteins in patients with non-small cell lung cancer referred to fast-track diagnostic work-up for lung cancer. *Scand J Clin Lab Invest* 2020;80:14-9.
15. Arendt JF, Farkas DK, Pedersen L, et al. Elevated plasma vitamin B12 levels and risk of venous thromboembolism among cancer patients: A population-based cohort study. *Thromb Res* 2017;156:177-83.
16. Rahbek MT, Scheller R, Nybo M, et al. Transient plasma cobalamin elevation in patients with pneumonia - two case reports. *Scand J Clin Lab Invest* 2018;78:333-4.
17. Soleimani R, Favresse J, Roy T, et al. Macro vitamin B12: an underestimated threat. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:408-15.
18. Hoffmann-Lücke E, Arendt JF, Nissen PH, et al. Three family members with elevated plasma cobalamin, transcobalamin and soluble transcobalamin receptor (sCD320). *Clin Chem Lab Med* 2013;51:677-82.
19. Maritsi DN, Vartzelis G, Dana H, et al. Plasma Folate, Vitamin B12 and Homocysteine Levels in Children with Solid Tumors at Diagnosis; Results from a Pediatric Referral Centre. *Indian J Pediatr* 2015;83:2.
20. Greibe E, Arendt J, Nexo E. More on failures of cobalamin assays in pernicious anemia. *N Engl J Med* 2012;367:1569-70.

Powerful Precision

For the benefit of the patient

Thermo Scientific™
B·R·A·H·M·S™ KRYPTOR™ compact PLUS



Thermo Scientific™
B·R·A·H·M·S™ KRYPTOR™ GOLD



Uncompromised quality – supporting relevant clinical decisions

For essential biomarkers in infection, cancer and pregnancy

- Trusted results with outstanding precision
- Reliable decisions from low interference
- Optimized workflow with self-determining dilution factor
- Unique assays for essential indications

Nobel Prize®-winning
TRACE™ technology

Find out more at thermoscientific.com/kryptor



Not all products are CE marked or have 510(k) clearance for sale in the U.S.

Availability of products in each country depends on local regulatory marketing authorization status.

©2020 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. KRYPTOR and TRACE are trademarks of Cisbio Bioassays, licensed for use by B·R·A·H·M·S GmbH, a part of Thermo Fisher Scientific. Nobel Prize is a registered trademark of the Nobel Foundation. 901282.1

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Ekvivalenstesting i laboratoriet

Arne Åsberg, Kristine Solem, Gustav Mikkelsen

Avdeling for medisinsk biokjemi, St. Olavs hospital, Trondheim

arne.aasberg@stolav.no



Innledning

Ekvivalenstesting er å undersøke om noe er likeverdig, eller tilstrekkelig likt. For eksempel brukes ekvivalenstesting ved sammenlikning av ulike behandlingsmetoder for sykdommer, for å se om en ny type behandling gir like god effekt som den etablerte behandlingen. Det kan ha stor interesse hvis den nye behandlingen er mindre kostbar eller gir færre bivirkninger (1). Når vi sier "like god effekt" mener vi ikke nødvendigvis *eksakt* like god, men en effekt som ligger innenfor en akseptabel forskjell, kalt ekvivalensmargin. Hvor stor ekvivalensmarginen kan være, må bestemmes på grunnlag av relevante, faglige krav og før man sammenlikner metodene.

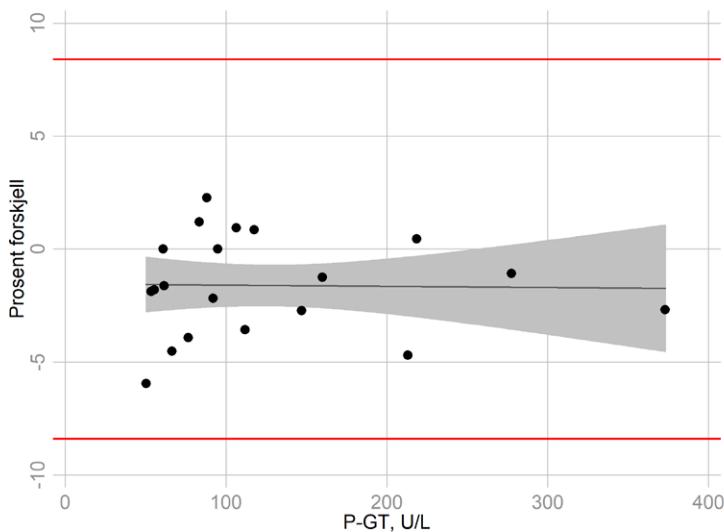
Tenker vi oss om, har vi tilsvarende problemstilinger i laboratoriemedisin. For eksempel ønsker

vi å vite om to analysemetoder gir tilstrekkelig like gjennomsnittsresultater til at de kan anvendes med samme sett av referansegrenser. Da vil vi gjerne vise at gjennomsnittsforskjellen er mindre enn \pm tillatt bias. I så fall er ekvivalensmarginen lik tallverdien av tillatt bias. Det samme gjelder for gjennomsnittsstandarder i forbindelse med skifte av reagens-batch og ved undersøkelse av prøvematerialets holdbarhet.

Ekvivalenstesting er ikke mye omtalt i vår litteratur. Ett unntak er artikkelen av Ialongo fra 2017 (2). Uttrykket "equivalence testing" er ikke å finne i stikkordlisten i den siste utgaven av Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics (3), og heller ikke ved søking i den elektroniske teksten.

Metodevalidering

Som eksempel på ekvivalenstesting skal vi her sammenligne gjennomsnittsnivået for to metoder til måling av aktiviteten av gamma glutamyltransferase i plasma, heretter kalt p-GT. Anta at vi har to ulike analysemetoder for måling av p-GT, og at vi ønsker å bruke de samme referansegrensene for begge metodene. Ekvivalenstesting krever at vi på forhånd bestemmer ekvivalensmarginen, dvs. hvor stor gjennomsnittsforskjell



Figur 1. P-GT er målt med to ulike analysemetoder i 20 pasientprover. For hver enkelt prøve er forskjellen mellom de to måleresultatene (resultat fra metode 2 minus resultat fra metode 1) plottet som prosent av gjennomsnittet for de to måleresultatene. Den horisontale linjen viser gjennomsnittsforskjell modellert som funksjon av gjennomsnittlig måleverdi, med bruk av vanlig lineær regresjon. Det grå området er gjennomsnittsforskjellens 90% konfidensintervall. Ekvivalensmarginen er 8,4%, så de to røde linjene ved $\pm 8,4\%$ markerer grensene for akseptabel gjennomsnittsforskjell.

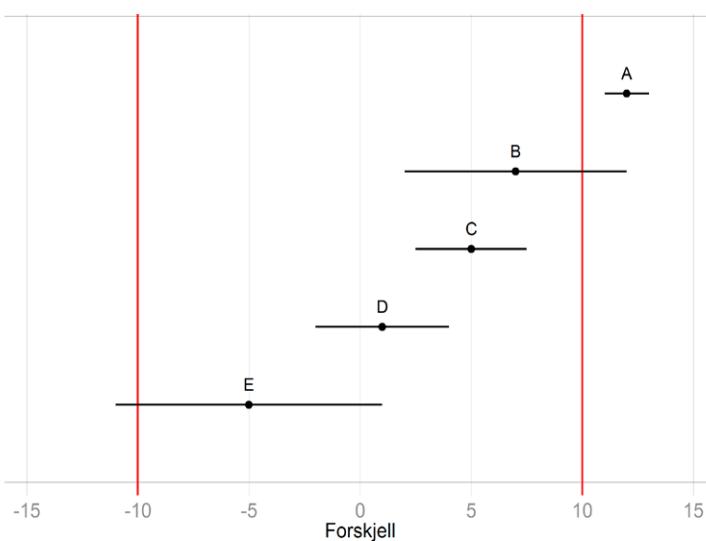
som er akseptabel - faglig sett. Vi kan her bestemme at akseptabel gjennomsnittsforskjell skal være lik tillatt bias basert på data om normal biologisk variasjon, som er $\pm 8,4\%$ (4). Anta nå at vi har analysert p-GT i 20 ulike pasientprøver og plottet prosent forskjell mot gjennomsnittet av de to målingene, som vist i figur 1. Der er det tegnet inn en linje for gjennomsnittsdifferansen som funksjon av nivået, og gjennomsnittsdifferansens 90% konfidensintervall. Akseptgrensene $\pm 8,4\%$ er også angitt. Er de to analysemетодene ekvivalente?

Vi synes ekvivalens er enklest å vurdere grafisk ut fra et skjema som vist i figur 2, uten bruk av hypotesetesting og utregning av p-verdier. I dette tilfellet er det gjennomsnittsdifferansen vi skal vurdere. Ikke ved noe nivå kommer 90% konfidensintervallet for gjennomsnittsdifferansen nær akseptgrensene. I sin helhet ligger 90% konfidensintervallet i akseptområdet. Det tilsvarer situasjon D i figur 2, det vil si at de to GT-metodenene er ekvivalente og kan benytte samme sett av referansegrenser. At 90% konfidensintervallet ikke omfatter 0 i lavt nivå, har ingenting med saken å gjøre. Det viser bare at gjennomsnittsforskjellen er statistisk signifikant forskjellig fra 0 i lavt nivå. Siden hele konfidensintervallet fortsatt er innenfor akseptgrensene, er metoden likevel ekvivalente.

Hvorfor valgte vi å bruke et 90% konfidensintervall for gjennomsnittet, og ikke et 95% konfidensintervall? Det er fordi denne grafiske metoden tilsvarer 2 ensidige t-tester ("TOST") med alfa lik 0,05 (1). Eller for å si det enklere: Når den ene grensen for gjennomsnittets 90% konfidensintervall akkurat tangerer

akseptgrensen, da er det bare 5% sannsynlighet for at gjennomsnittet ligger utenfor akseptgrensen på den siden av akseptområdet og lite sannsynlig at det skulle ligge utenfor akseptgrensen på den andre siden, så vi er omtrent "95% sikre" på at gjennomsnittet ligger i akseptområdet.

Hvor mange prøver trenger vi til ekvivalenstesting? I p-GT-eksemplet var det tilstrekkelig med 20, men hvis kravene er strenge fordi ekvalensmarginen er liten og akseptområdet smalt, så kan vi komme til å trenge mange flere prøver for å vise at to gjennomsnitt er tilstrekkelig like (5). Til vurdering av prøvematerialelets holdbarhet anbefaler Noklus å starte med 20 prøver og heller supplere med flere hvis det viser seg å være nødvendig (6). En slik pragmatisk holdning kan være smart i flere sammenhenger. Prøver vi å vise at presisjonen til det nyinnkjøpte instrumentet vårt er like god som leverandøren lovet, kan det hende at vi trenger svært mange målinger (7). Hvis leverandøren lovet at repeaterbarhets-CV er mindre enn 3,0% og vi finner 2,4% med et 90% konfidensintervall på 1,9-3,3% etter å ha gjort 20 replikate målinger, kan vi velge å øke til 36 replikater. Med samme punktestimat kan vi da se at øvre grense av 90% konfidensintervallet blir mindre enn 3,0%. Hadde punktestimatelet vært 2,9% etter de 20 første replikatene, ville arbeidet med å vise at CV sikkert var under 3,0% vært temmelig håpløst. Å vise at CV er under en viss størrelse, kan neppe kalles ekvivalenstesting i vanlig forstand, men vi kan bruke samme tenkemåte og betrakte 0 som den lave "akseptgrensen", siden svært lave CV-er også er akseptable.



Figur 2. Ulike utfall av ekvivalenstesting. Gjennomsnittlig forskjell mellom to målestørrelser er angitt med punktestimat og 90% konfidensintervall langs en skala. Ekvvalensmarginen er 10%, så de to røde, vertikale linjene er grensene for akseptområdet. A: Ikke-ekvivalens er påvist, fordi gjennomsnittet med hele sitt konfidensintervall er utenfor akseptområdet. B og E: Tivilstiller, der verken ekvivalens eller ikke-ekvivalens er påvist, fordi konfidensintervallet krysser en akseptgrense. C og D: Ekvivalens er påvist, fordi hele konfidensintervallet er i akseptområdet. I situasjon C er forskjellen sikkert større enn 0, men ikke i situasjon D. Forskjell fra 0 har ikke noe å si for vurdering av ekvivalens.

Kvalitetskontroll

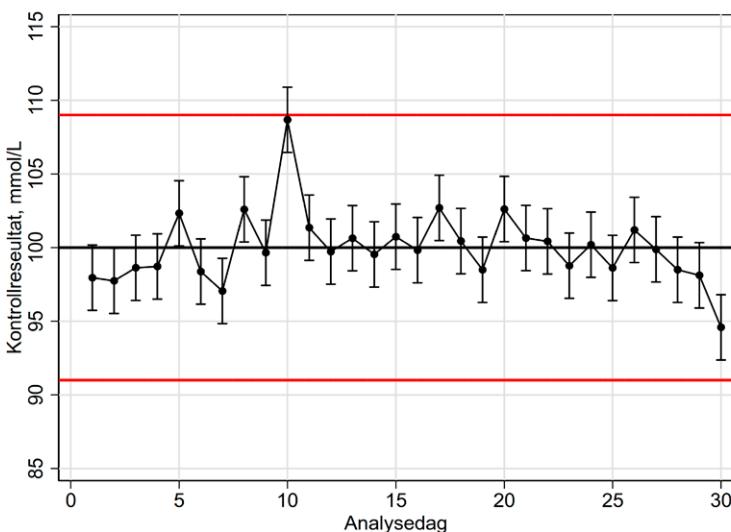
I daglig kvalitetskontroll undersøker vi om gjennomsnittsnivået er *tilstrekkelig* riktig. Det er også en slags ekvivalenstesting. Underlig nok regner vi som regel ikke ut gjennomsnittet av kontrollresultatene og ser til at et konfidensintervall for gjennomsnittet er i akseptområdet. Nei, vi teller vi opp hvor mange kontrollresultater som ligger innenfor (eller utenfor) 2 eller 3 analytiske standardavvik fra fasit-verdien til kontrollmaterialet, og lager oss kontrollregler basert på opptelling av slike hendelser. Denne merkelig indirekte fremgangsmåten kan kun forstås historisk, og den er ikke den mest effektive. Når vi bruker verktøy fra ekvivalenstesting til kvalitetskontroll, er det mest naturlig å bruke et 80% konfidensintervall rundt gjennomsnittet av kontrollresultatene, se figur 3. Da får vi "automatisk" 90% sannsynlighet for alarm ved tillatt systematisk feil. Sannsynligheten for falsk alarm blir mindre jo flere kontrollprøver vi undersøker, fordi 80 % konfidensintervallet for gjennomsnittet blir smalere. Bruker vi gjennomsnittet av minst 2 kontrollmålinger i hver analyseserie, er en slik vurdering av analysemetodens gjennomsnitt mer effektiv enn de vanlige "Westgard-reglene" (8).

Konklusjon

Vi kan tenke at metodevalidering og kvalitetskontroll tilsvarer ekvivalenstesting, og velge verktøy deretter. Gjør vi det, kan resultatet bli lettere å forstå, siden vi direkte sammenlikner prestasjon og krav.

Referanser

1. Walker E, Nowacki AS. Understanding Equivalence and Noninferiority Testing. *J Gen Intern Med* 2011;26:192–6.
2. Ialongo C. The logic of equivalence testing and its use in laboratory medicine. *Biochem Medica* 2017;27:5–13.
3. Rifai N, Horvath AR, Wittwer C, eds. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 6th Ed. St. Louis, Missouri: Elsevier 2018.
4. Carobene A, Røraas T, Sølvik UØ, et al. Biological Variation Estimates Obtained from 91 Healthy Study Participants for 9 Enzymes in Serum. *Clin Chem* 2017;63:1141–50.
5. Åsberg A, Solem KB, Mikkelsen G. Determining sample size when assessing mean equivalence. *Scand J Clin Lab Invest* 2014;74:713–5.
6. Noklus. Nasjonalt prosjekt for standardisering av holdbarhetsforsøk [Internett]. 2015 [sørt 16. juli 2020]. Tilgjengelig på: https://www.noklus.no/media/3wsftsfz/22_holdbarhet-protokoll_hvor-dan-utf%C3%B8re-holdbarhetsfors%C3%B8k.pdf
7. Åsberg A, Solem KB, Mikkelsen G. Validating precision – how many measurements do we need? *Scand J Clin Lab Invest* 2015;75:496–9.
8. Åsberg A, Bolann B, Mikkelsen G. Using the confidence interval of the mean to detect systematic errors in one analytical run. *Scand J Clin Lab Invest* 2010;70:410–4.



Figur 3. Statistisk kvalitetskontroll. Gjennomsnittet av 3 kontrollresultater og gjennomsnittets 80% konfidensintervall er plottet for hver analysesdag (eller for hvert "run"). Fasit er 100 mmol/L, det analytiske standardavviket (repeterbarhet) er 3 mmol/L og tillatt bias er 9 mmol/L (markert med røde linjer). Hvis ikke hele 80% konfidensintervallet er innenfor grensene for tillatt bias, har vi en alarm-situasjon. En slik situasjon oppstod på dag 10.

Användning av ”tillväxtkurvor” för barn för att skatta njurfunktionen

Anders Larsson

anders.larsson@akademiska.se



I dag rapporterar de flesta nordiska laboratorier automatiskt kreatinin som ett beräknat GFR värde (eGFR) utöver den rena koncentrationen. Det finns ganska stora material för referensintervall hos vuxna och beräkning av GFR, men underlaget är ofta betydligt mindre för barn. Det är ju något som i princip gäller alla laboratorieanalyser. Eftersom det är olika material som används för barn respektive vuxenmaterialen så får vi ofta ett skift vid 18 år då vi byter från barnreferenvärden till vuxenreferenvärden. Det finns inget tydligt biologiskt underlag till detta hopp utan är säkert orsakat av att det är olika referensmaterial som används vid beräkningarna.

Nyligen kom en artikel i SJCLI (1) där man använt laboratoriedatabaser för att ta fram ett stort antal kreatinininvärden från barn och vuxna. Dessa resultat användes för att beräkna åldersförändringarna/tillväxtkurvan för kreatinin under barndomen och upp till 40 års ålder. En användning mot att använda patientresultat kan vara att man får en överrepresentation av sjuka individer. Samtidigt kan man anta att denna överrepresentation borde vara någorlunda jämnt fördelad inom hela åldersintervallet. Använder man sig då av förändringar så minskar man effekterna av ev överrepresentation av höga kreatinininvär-

den. Med hjälp av kreatinintillväxtkurvan kunde barnresultaten omvandlas till ett eGFR motsvarande en vuxen person (18 år i det här fallet). Användningen av kontinuerliga variabler innebär att hoppet vid 18 år försvann och man kunde också visa att överensstämmelsen mellan beräknat GFR och mätt GFR förbättrades jämfört med separata barnekvationer.

Att omvandla barnvärden till vuxenvärden och sedan använda de vanliga vuxenreferensintervalen och eGFR ekvationer är annorlunda och känns lite konstigt vid första anblicken. Samtidigt kan man inte bortse från att det här arbetet i SJCLI visar att metoden fungerar och ger ett bättre mått på GFR än separata barnreferenvärden som dessutom ofta kräver komponenter som längd/höjd för att göra GFR beräkningarna. Längd/höjd är ju svårt att få in automatiskt i våra datasystem.

I SJCLI artikeln applicerades den här metodiken på kreatinin hos barn, men jag ser inte varför detta inte skulle kunna fungera på andra analyser. Det vore intressant att höra om den här metodiken skulle ge lika bra resultat om den testades på andra markörer.

1. Björk J, Nyman U, Delanaye P, et al. A novel method for creatinine adjustment makes the Lund-Malmö GFR equation generally applicable in children. Scand J Clin Lab Invest. 2020;80(6):456–463.



Patofysiologin vid krympt-por-syndrom (KPS), en vanlig njursjukdom med hög mortalitet

Gabriel Grubb¹, Monisha Pandita², Anders Grubb³,

¹ Röntgenkliniken, Blekingesjukhuset, Karlskrona, Sverige

²Kvinnokliniken, Blekingesjukhuset, Karlskrona, Sverige

³Klinisk Kemi, Institutionen för Laboratoriemedicin, Skånes Universitetssjukhus, Lund, Sverige

anders.grubb@med.lu.se



Identifiering och diagnos av KPS

Sänkt njurfunktion, definierat som sänkt glomerulär filtrationshastighet (GFR), medför ökad risk för dialysberoende, kardiovaskulär sjukdom och förtida död. Det glomerulära filtratet består huvudsakligen av vatten, 0,018 kDa, och andra småmolekyler t.ex. kreatinin, 0,11 kDa och urea, 0,06 kDa. Dock har bl.a. Norden och medarbetare visat, att också större molekyler t.ex. peptider och proteiner på 5 – 30 kDa till stor del utsöndras genom glomerulär filtration (1). De relativt höga filtrationskoefficienterna för dessa proteiner samt den stora mängden primärurin per dygn innebär, att huvuddelen av dessa proteiner också elimineras i denna filtrationsprocess med efterföljande återresorption och proteolys av dem i tubuli (2,3). Ett protein som noga karakteriseras i detta avseende är humant cystatin C, 13 kDa, som till mer än 85% elimineras genom glomerulär filtration (3). Det humana proteomet består till cirka 36% av proteiner med lägre massa än 30 kDa (2,4) och påverkas således kraftigt av ändringar i njurfunktionen. GFR bestäms vanligen genom invasiv mätning av plasma- eller urineliminationen av injicerade substanser med låg massa, t.ex. ⁵¹Cr-EDTA, 0,34 kDa, ¹²⁵I-iotalamat, 0,64 kDa eller iohexol, 0,82 kDa. Om njurfiltrationen ändras genom att utsöndringen av molekyler på 5-30 kDa selektivt minskar utan attfiltrationen av småmolekyler på < 1 kDa påverkas, kommer sådana metoder

inte att kunna påvisa detta. Detta gäller också om man använder plasmahalten av småmolekyler, som kreatinin och urea, för att estimera GFR. Om man emellertid använder "Lundamodellen" (5) för att estimera GFR kommer denna selektiva minskning i GFR för 5-30 kDa molekyler att kunna upptäckas. Ledande amerikanska nefrologer har nyligen angivit en strategi för estimering av GFR, som till stora delar är lik Lundamodellen (6). Lundamodellen innebär, att man vid första mötet med en patient estimerar dennes GFR med både en cystatin C- och en kreatinin-baserad GFR-estimeringsekvation (5,7 www.egfr.se). Om eGFR_{cystatin C} och eGFR_{kreatinin} överensstämmer är medelvärdet ytterst pålitligt som estimat av GFR och invasiv bestämning av GFR tillför inget. Om eGFR_{cystatin C} och eGFR_{kreatinin} inte överensstämmer och det inte finns någon extrarenal förklaring till skillnaderna, såsom sänkt muskelmassa vid anorexi och paralys eller högt intag av glukorkortikoider, är orsaken nästan alltid, att det föreligger en selektiv sänkning avfiltrationen av 5-30 kDa molekyler, eftersom skillnaden mellan estimeringarna i nästan alla fall innebär att eGFR_{cystatin C}/eGFR_{kreatinin}-kvoten är klart mindre än 1,0. Att en sådan selektiv sänkning avfiltrationen av 5-30 kDa molekyler identifierar ett nytt syndrom, benämnt krympt-por-syndrom, observerades 2014 (8), varvid eGFR_{cystatin C}/eGFR_{kreatinin}-kvoter < 0,6 eller < 0,7 användes för att ställa diagnosen vid avsaknad av icke-renala faktorer, som påverkar eGFR_{cystatin C} eller eGFR_{kreatinin} (2,8). Redan året efter noterades, att syndromet medför kraftigt ökad mortalitet och morbiditet (9,10), vilket därefter verifierats i ytterligare studier (11-14).

Intressant nog hade man 14 år före det att krympt-por-syndromet identifierades noterat, att det i graviditetens sista trimester förelåg en selektiv sänkning avfiltrationen av 5-30 kDa proteiner och att denna

sänkning var ännu mer uttalad vid preeklampsi (15–18). En eGFR_{cystatin C}/eGFR_{kreatinin}-kvot < 0,60 har också föreslagits som en lämplig beslutsgräns för utförande av kejsarsnitt eller induktion av förlossning för att reducera graviditetskomplikationer vid preeklampsi (19).

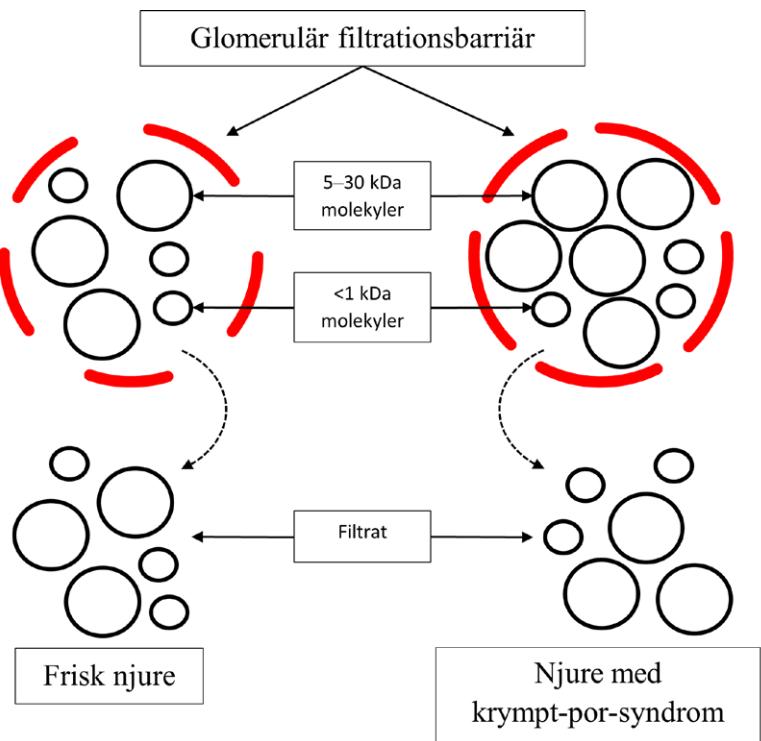
Invasiva undersökningar av enstaka patienter har också påvisat att selektivt sänkt filtration av 5–30 kDa molekyler förekommer (2,20).

Prevalens av KPS

I sex studier har prevalensen av KPS studerats. Fem av dessa gällde vuxna populationer och om diagnoskriteriet eGFR_{cystatin C}/eGFR_{kreatinin}-kvot < 0,60 användes varierade prevalensen mellan 0,2 och 19% (8–10,12,14). En intressant iakttagelse var att prevalensen av KPS var 5,3% i en subpopulation av personer med invasivt mätt GFR ≥ 60 ml/min/1,73 m², ingen albuminuri och ingen känd diagnos (14). Även i denna population av formellt "friska" individer var riskkvoten (hazard ratio, HR) för död hos personer med KPS kraftigt förhöjd (14). I en barnclicktion var KPS-prevalensen 4,8% (21).

Dödlighet i KPS, cancer, kardiovaskulär sjukdom, diabetes mellitus och traditionellt definierad njursjukdom i en population med invasivt bestämt GFR

I en studie av 2781 personer vars GFR bestämts genom analys av iohexol-clearance och som följes upp under i genomsnitt 5,6 år undersöktes mortaliteten i kardiovaskulära sjukdomar, cancer, diabetes mellitus, traditionellt definierad njursjukdom och KPS (14). Traditionellt definierad njursjukdom innebär att patienten har antingen GFR < 60 ml/min/1,73 m² eller albuminuri eller bådadera. Riskkvoten (HR) för död var därvid högre vid KPS än vid någon av de andra tillstånden vare sig man använde justerade eller ojusterade HR-värden. De ojusterade HR-värdena med 95% konfidensintervall var för traditionellt definierade njursjukdomar 1,3 (1,2–1,6) för kardiovaskulära sjukdomar 1,4 (1,2–1,6), för diabetes mellitus 1,6 (1,3–1,8), för cancer 2,6 (2,3–2,9), och för KPS 3,0 (2,5–3,6) (14). En intressant iakttagelse, som ovan nämnts, var att hos personer utan någon diagnosticerad sjukdom och således med normalt GFR och ingen albuminuri var riskkvoten för död vid KPS ännu högre: HR 7,3.



Figur 1. Patofysiologisk modell vid krympt-por-syndrom

(95% CI: 2.3–23.2) (14). Detta skulle kunna bero på, att i denna grupp inga andra kända riskfaktorer för ökad dödlighet än KPS fanns (14). De vanligaste dödsorsakerna hos patienter med KPS gällde cancer och kardiovaskulära sjukdomar (14).

Patofysiologin vid KPS

Eftersom cirka 36% av det humana proteomet består av proteiner < 30 kDa och en stor del av dessa huvudsakligen kataboliseras genom glomerulär filtration (2,4) kommer med stor sannolikhet många av dessa att öka i plasmahalt vid sänkt GFR. I en studie omfattande 386 patienter med GFR bestämt genom analys av iohexol-clearance, analyserades plasmahalten av 2893 proteiner (22). Av dessa upptäcktes 680, varav en stor del med molekylmassor < 30 kDa, en signifikant korrelation mellan plasmahalt och GFR där plasmahalten ökade vid lägre GFR (22). Högst korrelation till GFR upptäcktes plasmahalten av cystatin C (22). I en undersökning av 177 proteiner hos patienter med KPS och normalt GFR visade sig 30 förändringar i proteinernas plasmahalter vara specifika för KPS, varav 28 gällde ökade halt (11). I samma studie visade sig 31 förändringar i proteinernas plasmahalter vara specifika för patienter med KPS och samtidigt sänkt GFR, varav alla gällde ökade halter. Samma studie visade att 27 proteiners plasmahaltförändring var specifika för patienter med enbart sänkt GFR utan KPS. En korrelation fanns mellan molekylmassan och koncentrationsökningen av de plasmaproteiner som specifikt förändrades i plasmahalt vid KPS och den största ökningen i halt sågs för proteiner < 30 kDa (11). Någon motsvarande korrelation kunde inte observeras för de proteiner som specifikt förändrades i plasmahalt vid sänkt GFR utan KPS (11). Många av proteinerna < 30 kDa har signalfunktioner t.ex. cytokiner, kemokiner, adipokiner, tillväxtfaktorer och angiogena faktorer. Av de 30 ökningar i proteinhalt, som var specifika för KPS, visade sig 18 tidigare beskrivits som orsakande, eller förknippade med, utveckling av ateroskleros (11).

Baserad på por-modellen för den glomerulära filtra-tionen (23) kan således ovanstående fynd förklaras genom en patofysiologisk mekanism, illustrerad i figur 1 och i vilken porernas medelstorlek i den glomerulära filtrationsbarriären minskar, vilket leder till ökad plasmahalt av f.f.a. 5–30 kDa proteiner, varav många har signalfunktioner, som bl.a. påskyndar utvecklingen av cancer och kardiovaskulära sjukdomar.

Behandling

Enligt den angivna patofysiologiska modellen kan KPS behandlas genom dialys med membraner som, liksom friska njurar, tillåter borttransport av en stor del av patientens 5–30 kDa proteiner så att ökningarna av deras plasmakoncentrationer begränsas (2). En annan behandlingsmöjlighet är användning av monoklonala antikroppar för att sänka halten av de signalproteiner som ger mest skadliga effekter vid KPS (2).

Referenser

1. Norden AGW, Lapsley M, Lee PJ, et al. Glomerular protein sieving and implications for renal failure in Fanconi syndrome. *Kidney Inter* 2001;60:1885–92.
2. Grubb A. Shrunken pore syndrome – a common kidney disorder with high mortality. Diagnosis, prevalence, pathophysiology and treatment options. *Clin Biochem* 2020;83:12–20.
3. Tenstad O, Roald AB, Grubb A, et al. Renal handling of radiolabelled human cystatin C in the rat. *Scand J Clin Lab Invest* 1996;56:409–14.
4. Compton PD, Zamdborg L, Thomas PM, et al. On the scalability and requirements of whole protein mass spectrometry. *Anal Chem* 2011;83:6868–74.
5. Grubb A. Non-invasive estimation of glomerular filtration rate (GFR). The Lund model: Simultaneous use of cystatin C and creatinine-based GFR-prediction equations, clinical data and an internal quality check. *Scand J Clin Lab Invest* 2010;70:65–70.
6. Levey AS, Coresh J, Tighiouart H, et al. Measured and estimated glomerular filtration rate: current status and future directions. *Nat Rev Nephrol* 2020;16:51–64.
7. Grubb A. Cystatin C, kreatinin, sänkt njurfunktion, krympt-por-syndrom och döden. *Klinisk Biokemi i Norden*. 2016;28:23–8.
8. Grubb A, Lindström V, Jonsson M, et al. Reduction in glomerular pore size is not restricted to pregnant women. Evidence for a new syndrome: “Shrunken pore syndrome”. *Scand J Clin Lab Invest* 2015;75:333–340.
9. Dardashti A, Nozohoor S, Grubb A, et al. Shrunken Pore Syndrome is associated with

- a sharp rise in mortality in patients undergoing elective coronary artery bypass grafting. *Scand J Clin Lab Invest* 2016;76:74–81.
10. Purde MT, Nock S, Risch L, et al. The cystatin C/creatinine ratio, a marker of glomerular filtration quality: associated factors, reference intervals, and prediction of morbidity and mortality in healthy seniors. *Transl Res* 2016;169:80–90.
 11. Sällman-Almén M, Björk J, Nyman U, et al. Shrunken pore syndrome is associated with increased levels of atherosclerosis-promoting proteins. *Kidney Int Rep* 2019;4:67–79.
 12. Herou E, Dardashti A, ..., Grubb A, et al. The mortality increase in cardiac surgery patients associated with shrunken pore syndrome correlates with the eGFRcystatin C/eGFRcreatinine-ratio. *Scand J Clin Lab Invest* 2019;79:167–73.
 13. Ljungberg J, Johansson B, Bergdahl IA, Holmgren A, Näslund U, Hultdin J, et al. Mild impairment of renal function (shrunken pore syndrome) is associated with increased risk for future surgery for aortic stenosis. *Scand J Clin Lab Invest* 2019;79:524–30.
 14. Åkesson A, Lindström V, Nyman U, et al. Shrunken pore syndrome and mortality: a cohort study of patients with measured GFR and known comorbidities. *Scand J Clin Lab Invest* 2020;80:412–22.
 15. Strevens H, Wide-Swensson D, Torffvit O, Grubb A. Serum cystatin C for assessment of glomerular filtration rate in pregnant and non-pregnant women. Indications of altered filtration process in pregnancy. *Scand J Clin Lab Invest* 2002;62:141–7.
 16. Strevens H, Wide-Swensson D, Grubb A. Serum cystatin C is a better marker for preeclampsia than serum creatinine or serum urate. *Scand J Clin Lab Invest* 2001;61:575–80.
 17. Kristensen K, Lindström V, ...Grub A, et al. Temporal changes of the plasma levels of cystatin C, beta-trace protein, beta-2-microglobulin, urate and creatinine during pregnancy indicate continuous alterations in the renal filtration process. *Scand J Clin Lab Invest* 2007;67:612–8.
 18. Kristensen K, Wide-Swensson D, Schmidt C, Blirup-Jensen S, Lindström V, Strevens H, et al. Cystatin C, beta-2-microglobulin and beta-trace protein in pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2007;86:921–6.
 19. Damm D, Pariza P, Grubb A, et al. Predicting maternal morbidity in hypertension in pregnancy with the "shrunken pore syndrome" ratio for optimal timing of delivery. *Pregnancy Hypertension* 2018;13 (suppl. 1):108–9.
 20. Oberbauer R, Nenov V, Weidekamm C, et al. Reduction in mean glomerular pore size coincides with the development of large shunt pores in patients with diabetic nephropathy. *Exp Nephrol* 2001;9:49–53.
 21. den Bakker E, Gemke R, van Wijk J, et al. Evidence for shrunken pore syndrome in children. *Scand J Clin Lab Invest* 2020;80:32–8.
 22. Christensson A, Ash JA, DeLisle RK, et al. The impact of the glomerular filtration rate on the human plasma proteome. *Proteomics Clin Appl* 2018;12(3):e1700067.
 23. Rippe B, Haraldsson B. Transport of macromolecules across microvascular walls: the two-pore theory. *Physiol Rev* 1994;74:163–219.



Stormfågel (*Fulmarus glacialis*). Foto: Henrik Alfthan.

The ACT in 2020

Florian Falter¹, Evelien Kemna²

¹Department of Anaesthesia and Intensive Care Medicine, Royal Papworth Hospital, Cambridge, UK

²Medlon, Medisch Laboratorium Oost-Nederland, Enschede, The Netherlands

florian.falter@gmail.com



Introduction

The activated whole blood clotting time (ACT) measures the time it takes whole blood to clot when exposed to substances that activate the contact factors. Like the aPTT, this test assesses the intrinsic and common pathways of coagulation. Paul Hattersley first described the ACT in 1966 (1) and Donald Hill first used it in 1974 as a simple method of heparin management during extracorporeal circulation (1). Even more than 40 years later the ACT remains the primary test for monitoring heparin activity in operating rooms, catheter labs, intensive care and haemodialysis units around the world. In its original version the ACT was somewhat cumbersome to use, requiring the diatomaceous earth celite as activator, the sample needed to be placed into a pre-warmed tube sitting in a water bath or on a heating plate and generating a result when the blood had clotted. There was huge variation in the way different operators handled samples, which is likely to have contributed to the large variation in results. To this day the ACT value required for safe conduct of cardiopulmonary bypass (CPB) varies between hospitals and appears to be based on tradition rather than science (2).

The introduction of a standardised test came with the first Hemochron device (Hemochron ACT, International Technidyne Corp, Edison, NJ, USA). This has been followed by numerous different devices from a variety of manufacturers, all aiming to make the process easier for the user. Unfortunately, the test remains troubled by big variations in the results. Even in the advent of the newest ACT measuring device, which in the case of the Abbott i-STAT (Abbott Point of Care, Princeton, NJ, USA) that makes use of a more reproducible amperometric

testing method, the amount of heparin protocols remains confusing (2).

The arrival of the antifibrinolytic drug aprotinin in cardiac surgical practice in the 1980ties initially cast doubt over the ACT, as it binds celite causing an artificial prolongation of the clotting time (3). Kaolin emerged as the activator of choice and is only mildly influenced by aprotinin. A series of adverse publications around 2008, culminating in the BART trial (4), forced the removal of the drug from the market. Since aprotinin has been rehabilitated after numerous reviews of the literature (5). Its increasing use worldwide leads the authors to believe that ACT tests based on celite will be phased out in the near future.

To this day heparin is worldwide the preferred agent for anticoagulation, owing to its cheap price and relative ease and safety of use (6). Adequate anticoagulation is mandatory for extracorporeal circulation and where foreign material, such as large-bore catheters, is introduced into the bloodstream for extended periods of time. Blood contact with artificials otherwise leads to activation of the clotting cascade with potentially fatal consequences.

Conventional CPB circuits are made up of several meters of plastic tubing, a plastic reservoir and a hollow fibre oxygenator (see Figure 1). Without appropriate anticoagulation, clot would form in the circuit within minutes when filled with blood. The consequences of that are likely to be fatal; at the very least clot formation in the CPB circuit will cause severe post-operative organ damage such as neurological dysfunction or renal failure.

Point-of-care test

The ACT is a true point-of-care (POC) test, performed at the bedside. All modern devices are small, portable and easy to use; the mostly cartridge-based consumables can be stored outside the fridge for reasonable periods of time. The advantages over

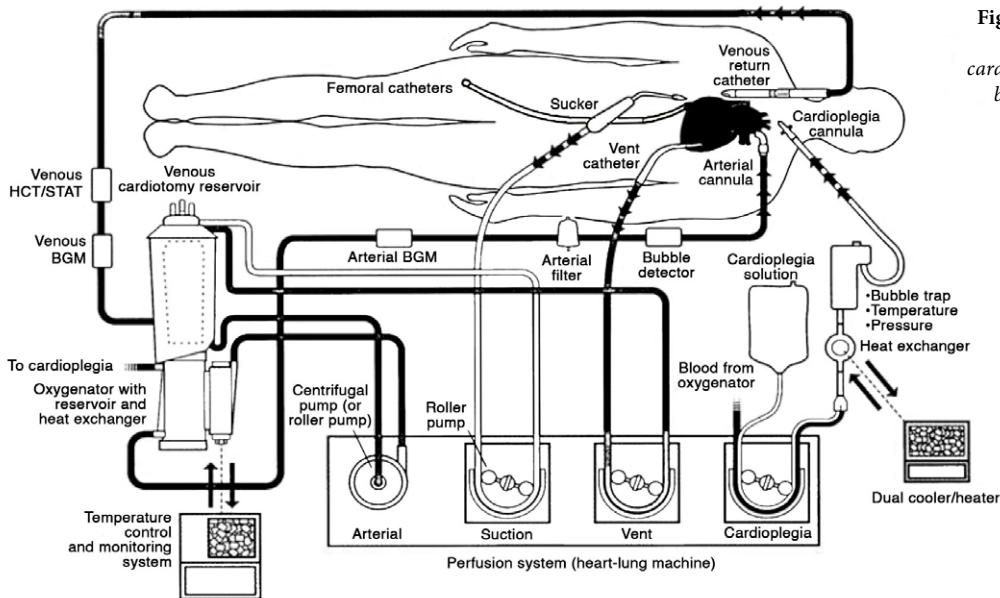


Figure 1. Set up of a standard cardiopulmonary bypass circuit.

tests that need to be sent to the lab for processing are apparent (7):

- faster draw to result time
- decreased risk of sample degradation over time
- minimal risk of samples being mislabelled or mishandled
- non-lab staff are able to perform the test

There are several POC methods available for ACT measurement and results obtained with different devices can vary substantially (8-10). An overview over the most widely used devices and their testing principle are shown in Table 1. The vast majority of these use clot formation as their measuring endpoint. In contrast, the i-STAT utilises the amperometric detection of an electroactive compound formed during the common pathway of the clotting cascade.

The most commonly used activators are celite and kaolin. Some manufacturers offer added features, such as high and low range cartridges or a prewarm and no prewarm mode. There is no consensus about use or usefulness of these additional utilities amongst clinicians.

Lack of standardisation

The key to understanding the ACT is to realise that there is no ‘gold standard’, that there is no true ACT value or reference range and target ranges are either

empiric or based on small-scale studies (11). The American College of Cardiology Foundation/American Heart Association guidelines for management of STMI are a just one example of this: they recommend different ACT target ranges for different devices during primary PCI procedures (12). The importance of comparing the performance of different devices over a wide analytical range can therefore not be overstated.

Since the introduction into clinical medicine the ACT has always been ‘owned’ by clinicians and has not benefitted from involvement by laboratory medicine. This is in contradiction to guidelines such as ISO 22870, which state that POC devices fall under the laboratory umbrella. In practice this puts an obligation on laboratory professionals to be involved in all matters of ACT. In keeping with good medical practice the ACT – like any other test – has to be approached in a multidisciplinary fashion to ensure appropriate usage and optimal patient care.

Method comparison

Several studies have attempted to compare the performance of various ACT devices. Schussler et al. compared i-STAT with Hemochron during PCI and concluded that the difference in results was not clinically significant (13). Paniccia et al. reported similar results when using Hemochron and i-STAT in CPB or in haemodialysis until high levels of heparin are administered on

CPB when results become statistically different (14). A small scale study by Maslow et al. confirms this observation and reports that the Hemochron yielded higher ACT values than the i-STAT when high doses of heparin are used (15). This contrasts a recent large multi-centre study which found i-STAT to systematically return higher measurements compared to the Hemochron (16). Studies comparing the Hemochron Jr. Signature with the Medtronic ACT Plus during CPB showed a good correlation between the two devices with the Hemochron yielding lower readings (17, 18). This is in contrast to results from lower dose heparin PCI trials where the Medtronic ACT values were consistently lower when compared to Hemochron (19). Unsurprisingly, a further comparison involving three ACT devices - GEM PCL, Hemochron and Medtronic - during cardiovascular surgical procedures, confirmed that results from these devices could not be used interchangeably (8).

The main concern when dealing with ACT measurements is ensuring the reliability of the devices. There are several studies investigating the reproducibility of results generated by different devices. Notably Ojito et al. (9) compared four different ACT devices, Medtronic HMS and ACTplus, Hemochron Signature Elite and i-STAT, whereas Bosch and colleagues investigated the repeatability of the GEM PCL, Hemochron 801 and Medtronic (8). Both studies showed the Hemochron to have the highest variability while i-STAT and Medtronic delivered the most consistent results. A comparison between the Actalyke and Hemochron during CBP showed higher reproducibility of the former (20). The to date largest multi-centre study compared the reproducibility of results of i-STAT vs. Hemochron during cardiac surgery. The authors showed that the i-STAT provides a more reliable and reproducible test for assessing safe anticoagulation during cardiac surgery

Manufacturer	Device	Test setup	Reagent	Detection method	Other
Medtronic	ACT plus	ACT LR	Celite	mechanical	
	HMS plus	ACT HR	Celite	mechanical	Heparin titration and dose response
Sienco	Sonoclot	kACT gbACT+ Kit sonACT Kit	Kaolin Glass bead Celite	mechanical	Low range High range
International Technidyne	Hemochron Jr. Signature, Signature+ Signature Elite	ACT and ACT low range	Mixture of silica, kaolin and phospholipids	mechanical endpoint clotting, monitored optically	Hemonox assay for enoxaparin
	Hemochron response	cACT kACT Glass activated ACT	Celite Kaolin in glass tube, Glass beads in plastic tubes	mechanical	Protamine dose assay. Heparin and protamin response test
Instrumentation Laboratory	GEM PCL	ACT, ACT-LR	Kaolin and silica Celite	mechanical endpoint clotting, monitored optically	
Helena Laboratories	Cascade Abrazo	cACT (LR)	Celite	mechanical endpoint clotting, monitored optically	Chamber containing paramagnetic iron oxide particle
	Actalyke XL/ Mini II	cACT kACT glass ACT MAX ACT	Celite Kaolin glass Mixture of all	Two-point electromechanical	
Abbott Laboratories	i-STAT	cACT kACT	Celite Kaolin	Electrochemical	

Table 1. Overview of main selection POC devices for measuring ACT

on pump (16). The superior analytical performance of the i-STAT was equally confirmed in another multi-centre study including cardiac surgical and catheter lab procedures (21).

Quality assurance

As for any laboratory test POCT has to be subject to quality assurance. Internal quality control (IQC) and external quality assessment (EQA), where available, are integral parts of this process. IQC procedures ensure immediate and constant control of result generation. IQC may confirm that a test is precise, however this does not necessarily make it accurate. Some form of external assessment is desirable to confirm accuracy and is recommended in the regulatory standard (ISO22870). Unfortunately, there is no agreed formal EQA program for ACT measurement at this point in time; there is not even a way to compare ACT performance between institutions (22). As mentioned before, there is no 'gold standard' ACT method, making robust EQA even more desirable.

Other coagulation tests?

To our knowledge there is currently no good alternative to the ACT for ensuring adequate procedural anticoagulation with unfractionated heparin. The current regime of POC testing comes with a number of clinical advantages. Particularly the short draw to result time is of essence as it is not in patients' best interest to be laying on an operating table or a catheter lab table waiting for the procedure to be able to commence or continue. Also, the question of heparin decay during the time spent waiting and at what point anticoagulation has to be topped up and a new test needs ordering remains unanswered.

Heparin management systems, such as Medtronic's Hepcon HMS Plus estimate heparin dose, ACT and heparin dose response. Despite the theoretical advantages associated with this, they have not been introduced into clinical practice widely and have been shown to poorly estimate heparin requirements (23). Additionally the lack of adoption of this technology is likely to be due to the fact that conventional ACT devices are cheaper, simpler to use and familiar to the vast majority of clinicians.

Viscoelastic whole blood techniques, such as thrombelastography (TEG, Hemonetics, Braintree, MA, USA) or rotational thrombelastometry (ROTEM, TEM International, Munich, Germany), measure the time

between addition of the activator and the onset of clot formation and could therefore theoretically be used in a similar way as the ACT. This approach has never been validated and to the authors' knowledge has never been published.

Although prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) have their place in pre-operative testing of cardiac surgical patients, they are not helpful in assessing procedural anticoagulation. They do not reflect the complexity of haemostasis *in vivo*. Their main drawback is their inability to provide information about the interaction with platelets as both are measured in platelet poor plasma (24). Moreover, heparin concentrations exceeding 1 IU/mL cannot be accurately evaluated by aPTT.

Future for ACT

Tackling three main clinical challenges will largely determine future developments in ACT technology and research. Firstly, commonly encountered conditions such as haemodilution, varying concentration of clotting factors, hypofibrinogenaemia, hypothermia and reduced platelet count or function, have all been shown to affect ACT measurement to different degrees (25). Secondly, the renaissance of aprotinin is bound to reignite the discussion about ACT activators, safe heparin dosing and appropriate ACT values in the presence of an antifibrinolytic. Celite as activator has widely been replaced by kaolin, which has been shown to be less affected by aprotinin (26-29). There is, however, greater uncertainty if any one device is superior in ACT measurement when using aprotinin on CPB. Several studies from around the time when aprotinin was withdrawn suggest that the Sonoclot produces more consistent results than the Hemochron Kaolin ACT (30, 31) and is less affected by the drug (32). Thirdly, the debate about appropriate anticoagulation and its monitoring will become more prevalent in the age of clotting factor concentrates and of prolonged mechanical support with extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) in increasingly sick patients.

Conclusion

The ACT has gone unchallenged in 44 years of clinical use and traditional ACT technology and thinking are about to undergo changes. When engaging in debate about ACT it is important to remember that there is no reference range, no universally agreed target value for certain procedures and that there is no gold standard,

making EQA virtually impossible. Presently the most promising approach is to compare the performance of different devices by reproducibility of results. Although all currently available systems correlate with each other to a certain extent, they yield different results. Emerging evidence suggests that devices cannot be used interchangeably. It should therefore be recommended that individual institutions use multidisciplinary teams of lab and clinical experts to establish their ACT targets based on the device used and the clinical application the test is intended for, rather than historic institutional preference.

References

- Hill JD, Dontigny L, De Leval M, et al. A simple method of heparin management during prolonged extracorporeal circulation. *Ann Thorac Surg.* 1974;17:129-34.
- Miles LF, Coulson TG, Galhardo C, et al. Pump Priming Practices and Anticoagulation in Cardiac Surgery: Results From the Global Cardiopulmonary Bypass Survey. *Anesth Analg.* 2017;125:1871-1877.
- Machin D and Devine P. The effect of temperature and aprotinin during cardiopulmonary bypass on three different methods of activated clotting time measurement. *J Extra Corpor Technol.* 2005;37:265-71.
- Fergusson DA, Hebert PC, Mazer CD, et al. A comparison of aprotinin and lysine analogues in high-risk cardiac surgery. *N Engl J Med.* 2008;358:2319-2331.
- Howell N, Senanayake E, Freemantle N, et al. Putting the record straight on aprotinin as safe and effective: results from a mixed treatment meta-analysis of trials of aprotinin. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2013;145:234-40.
- Shore-Lesserson L, Baker RA, Ferraris VA, et al. The Society of Thoracic Surgeons, The Society of Cardiovascular Anesthesiologists, and The American Society of ExtraCorporeal Technology: Clinical Practice Guidelines-Anticoagulation During Cardiopulmonary Bypass. *Ann Thorac Surg.* 2018;105:650-662.
- Spinler SA, Wittkowsky AK, Nutescu EA, et al. Anticoagulation monitoring part 2: Unfractionated heparin and low-molecular-weight heparin. *Ann Pharmacother.* 2005;39:1275-85.
- Bosch YP, Ganushchak YM, de Jong DS. Comparison of ACT point-of-care measurements: repeatability and agreement. *Perfusion.* 2006;21:27-31.
- Ojito JW, Hannan RL, Burgos MM, et al. Comparison of point-of-care activated clotting time systems utilized in a single pediatric institution. *J Extra Corpor Technol.* 2012;44:15-20.
- Lewandrowski EL, Van Cott EM, Gregory K, et al. Clinical evaluation of the i-STAT kaolin activated clotting time (ACT) test in different clinical settings in a large academic urban medical center: comparison with the Medtronic ACT Plus. *Am J Clin Pathol.* 2011;135:741-8.
- Thenappan T, Swamy R, Shah A, et al. Interchangeability of activated clotting time values across different point-of-care systems. *Am J Cardiol.* 2012;109:1379-82.
- O'Gara PT, Kushner FG, Ascheim DD, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation.* 2013;127:529-55.
- Schussler JM, Aguanno JJ, Glover EN, et al. Comparison of the i-STAT handheld activated clotting time with the Hemochron activated clotting time during and after percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol.* 2003;91:464-6.
- Paniccia R, Fedi S, Carbonetto F, et al. Evaluation of a new point-of-care celite-activated clotting time analyzer in different clinical settings. The i-STAT celite-activated clotting time test. *Anesthesiology.* 2003;99:54-9.
- Maslow A, Chambers A, Cheves T, et al. Assessment of Heparin Anticoagulation Measured Using i-STAT and Hemochron Activated Clotting Time. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2018.
- Falter F, Razzaq N, John M, et al. Clinical Evaluation of Measuring the ACT during Elective Cardiac Surgery with Two Different Devices. *J Extra Corpor Technol.* 2018;50:38-43.
- Lee JM, Park EY, Kim KM, et al. Comparison

- of activated clotting times measured using the Hemochron Jr. Signature and Medtronic ACT Plus during cardiopulmonary bypass with acute normovolemic haemodilution. *J Int Med Res.* 2018;46:873-882.
18. Svenmarker S, Appelblad M, Jansson E, et al. Measurement of the activated clotting time during cardiopulmonary bypass: differences between Hemotec ACT and Hemochron Jr apparatus. *Perfusion.* 2004;19:289-94.
 19. Chia S, Van Cott EM, Raffel OC, et al. Comparison of activated clotting times obtained using Hemochron and Medtronic analysers in patients receiving anti-thrombin therapy during cardiac catheterisation. *Thromb Haemost.* 2009;101:535-40.
 20. Leyvi G, Shore-Lesserson L, Harrington D, et al. An investigation of a new activated clotting time "MAX-ACT" in patients undergoing extracorporeal circulation. *Anesth Analg.* 2001;92:578-83.
 21. Kemna EW, Kuipers C, Oude Luttkhuis-Spanjer AM, et al. A two site comparison of two point-of-care activated clotting time systems. *Clin Chem Lab Med.* 2017;55:e13-e16.
 22. Fowler A, Perry DJ. Laboratory monitoring of haemostasis. *Anaesthesia.* 2015;70 Suppl 1:68-72, e24.
 23. Garvin S, FitzGerald DC, Despotis G, et al. Heparin concentration-based anticoagulation for cardiac surgery fails to reliably predict heparin bolus dose requirements. *Anesth Analg.* 2010;111:849-55.
 24. Tanaka KA, Key NS, Levy JH. Blood coagulation: hemostasis and thrombin regulation. *Anesth Analg.* 2009;108:1433-46.
 25. Koster A, Fischer T, Praus M, et al. Hemostatic activation and inflammatory response during cardiopulmonary bypass: impact of heparin management. *Anesthesiology.* 2002;97:837-41.
 26. Dietrich W, Jochum M. Effect of celite and kaolin on activated clotting time in the presence of aprotinin: activated clotting time is reduced by binding of aprotinin to kaolin. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1995;109:177-8.
 27. Dietrich W, Dilthey G, Spannagl M, et al. Influence of high-dose aprotinin on anticoagulation, heparin requirement, and celite- and kaolin-activated clotting time in heparin-pretreated patients undergoing open-heart surgery. A double-blind, placebo-controlled study. *Anesthesiology.* 1995;83:679-89; discussion 29A-30A.
 28. Abramson DC, Pivalizza EG, Gottschalk LI. Activated clotting time measurements and aprotinin studies. *Circulation.* 1996;94:1791-2.
 29. Despotis GJ, Joist JH, Joiner-Maier D, et al. Effect of aprotinin on activated clotting time, whole blood and plasma heparin measurements. *Ann Thorac Surg.* 1995;59:106-11.
 30. Dalbert S, Ganter MT, Furrer L, et al. Effects of heparin, haemodilution and aprotinin on kaolin-based activated clotting time: in vitro comparison of two different point of care devices. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2006;50:461-8.
 31. Ganter MT, Dalbert S, Graves K, et al. Monitoring activated clotting time for combined heparin and aprotinin application: an in vitro evaluation of a new aprotinin-insensitive test using SONOCLOT. *Anesth Analg.* 2005;101:308-14, table of contents.
 32. Dong Y, Nuttall GA, Oliver WC, et al. Aprotinin does not prolong the Sonoclot aprotinin-insensitive activated clotting time. *J Clin Anesth.* 2007;19:424-8.

Financial Disclosures

This work was supported by an educational grant from Abbott POC.

Conflicts of interest

Florian Falter: Abbott POC – speaker bureau; LivaNova – educational grant; JP Moulton Foundation – research grant.

Evelien Kemna: none disclosed

The article has previously been published in Klinlab 3/2019, The Finnish Society of Clinical Chemistry's journal.

Ph.d. afhandling: Biokemiske markører associeret til øget mortalitet hos hoftefrakturpatienter

Debbie Salling Norring-Agerskov

Abdominalkirurgisk Afdeling K, Bispebjerg Hospital

debbie.salling.norring-agerskov@regionh.dk



Debbie Salling Norring-Agerskov forsvarerede sin ph.d. ved Syddansk Universitet 24. juni 2019 med titlen "Prediction of mortality in patients with hip fracture using biomarkers of common comorbidities".

Baggrund

Hoftefrakter udgør en væsentlig sundhedsmæssig belastning blandt ældre verden over. I Europa forekommer mere end 600.000 fraktere årligt. Den mest almindelige årsag til en hoftefraktur er osteoporose kombineret med et lav-energi traume. Hoftefraktere er associeret med både øget morbiditet og mortalitet. Mortaliteten efter den første måned rapporteres ofte til at være omkring 10%.

Forskning gennem tiden har vist, at flere faktorer er forbundet med en øget risiko for død. Man kan opdele disse faktorer som modificerbare, potentielt modificerbare eller direkte ikke-modificerbare. De mest anerkendte risikofaktorer er høj alder, mandligt køn, frailty, lav BMI, komorbiditeter og tid til operation. En potentielt modificerbar risikofaktor er biokemiske ubalancer hos patienten. Da biokemiske ubalancer potentielt kan korrigeres, vil identifikation af disse give mulighed for at bedre overlevelsen for højrisikopatienter.

Formålet med min ph.d.-afhandling var at undersøge specifikke biokemiske markører relateret til en række almindelige komorbiditeter og deres relation til mortalitet efter en hoftefraktur. Derudover ønskede vi ud fra vores resultater at udarbejde en prædiktionsmodel for død efter en hoftefraktur som et muligt redskab for klinikerne til identifikation af højrisikopatienter.

De inkluderede biokemiske markører var kalium, thyroidea stimulerende hormon (TSH), C-reaktivt protein (CRP), soluble urokinase plasminogen

activating receptor (suPAR), ferritin, transferrin, N-terminal B-type natriuretisk peptid (NT-proBNP), troponin I (TnI), total kolesterol (TK), triglycerider (TG), high-density lipoprotein-kolesterol (HDL-K) og low-density lipoprotein-kolesterol (LDL-K).

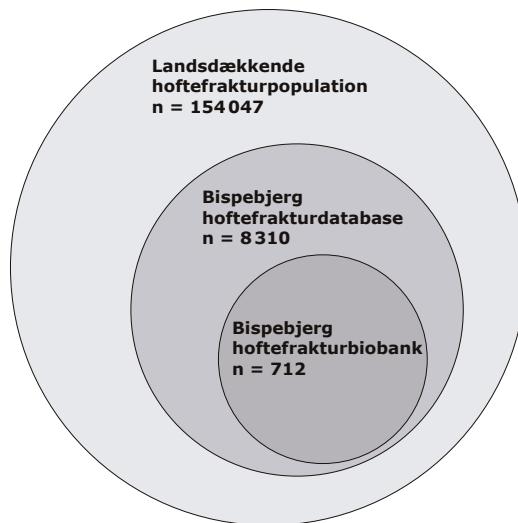
Afhandlingen bygger på fire studier.

I. *Hyperkalemia is associated with increased 30-day mortality in hip fracture patients.* Norring-Agerskov D, Madsen CM, Abrahamsen B, Riis T, Pedersen OB, Jørgensen NR, Bathum L, Lauritzen JB and Jørgensen HL. *Calcif Tissue Int.* 2017;101(1):9–16. Dette studie undersøger prævalensen af kaliumforstyrrelser hos hoftefrakturpatienter ved indlæggelsen, og hvorvidt disse forstyrrelser har relation til mortalitet.

II. *Thyroid-stimulating hormone (TSH) is associated with 30-day mortality in hip fracture patients.* Rapacki E, Lauritzen JB, Madsen CM, Jørgensen HL, Norring-Agerskov D. *Eur J Trauma Emerg Surg.* 2019 Nov 6. [Online ahead of print]. Dette studie undersøger thyroideafunktion og mortalitet hos hoftefrakturpatienter.

III. *Biochemical markers of inflammation are associated with increased mortality in hip fracture patients: The Bispebjerg Hip Fracture Biobank.* Norring-Agerskov D, Bathum L, Abrahamsen B, Pedersen OB, Lauritzen JB, Jørgensen NR and Jørgensen HL. *Aging Clin Exp Res.* 2019. [Epub ahead of print]. Dette studie undersøger associationen mellem mortalitet efter hoftefraktur og de inflammatoriske biokemiske markører CRP, suPAR, ferritin og transferrin. Desuden undersøges relationen til myoglobin og creatin kinase (CK) som udtryk for muskelvævsskade.

IV. *History of cardiovascular disease and cardiovascular biomarkers are associated with 30-day mortality in patients with hip fracture.* Norring-Agerskov D,



Figur 1 Patientpopulationer

Madsen CM, Bathum L, Pedersen OB, Lauritzen JB, Jørgensen NR, Jørgensen HL. *Osteoporos Int.* 2019 Sep;30(9):1767-1778. Dette studie undersøger associationen mellem hjertekarsygdom og mortalitet hos hoftefrakturpatienter. Endvidere undersøgte vi relationen til specifikke biokemiske markører for hjertekarsygdom, NT-proBNP, TnI, TK, TG, HDL-K og LDL-K.

Materiale og metoder

Afhandlingen bygger på tre patientpopulationer, som overlapper hinanden: Den landsdækkende hoftefrakturpopulation, der inkluderer 154.047 danske hoftefrakturpatienter (fra 1. januar 1995 til 31. december 2012.) Disse patienter er identificeret ved brug af Landspatientregisteret.

Bispebjerg hoftefrakturdatabase inkluderer 8.310 patienter, som alle har været indlagt med en hoftefraktur på Bispebjerg Hospital fra (1. januar 1996 til 30. august 2012.) Denne database indeholder information om patienterne, frakturen og oplysninger fra indlæggelsen. Derudover indeholder den laboratorieresultater taget under indlæggelsen.

På en gruppe af patienterne fra hoftefrakturdatabasen er der over en periode på 2,5 år indsamlet biologisk materiale i forbindelse med indlæggelsen. Disse patienter udgør Bispebjerg Hoftefrakturbiobank. I alt er der materiale på 698 patienter.

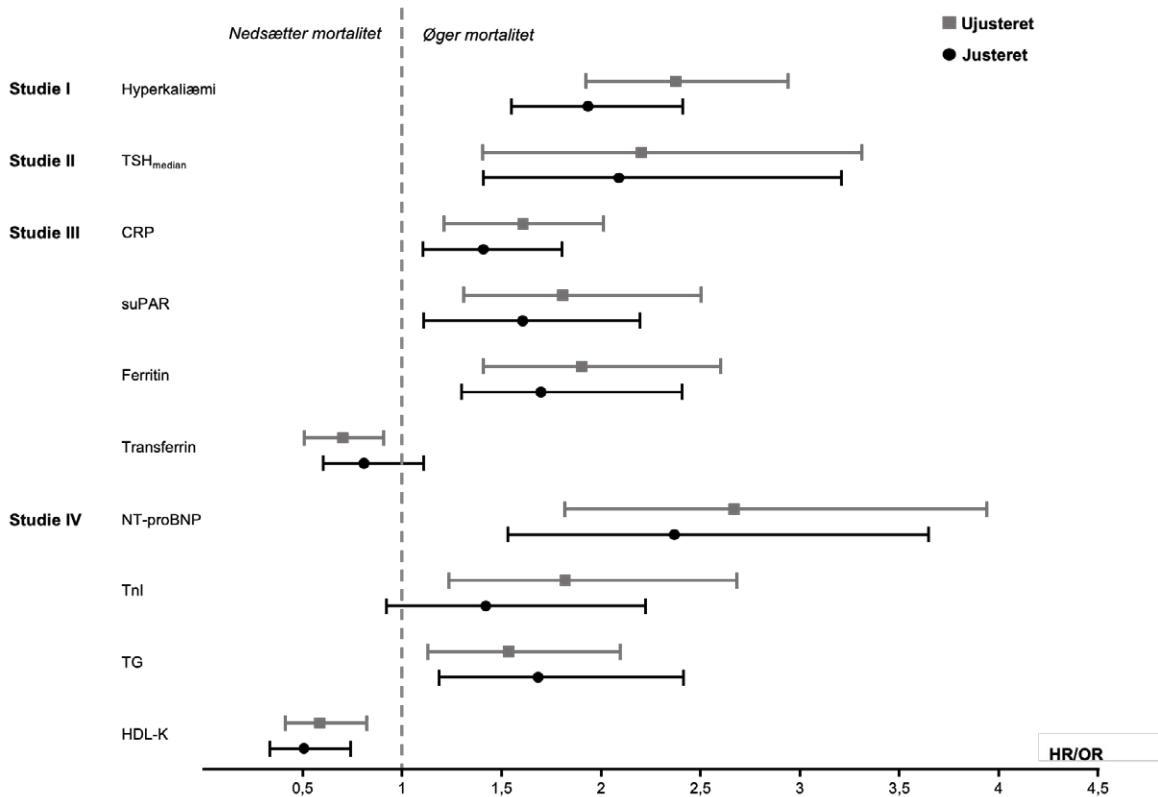
Patienterne fra biobankpopulationen udgør således en delmængde af databasenpopulationen, som igen udgør en delmængde af den store landsdækkende hoftefrakturpopulation (Figur 1). Hazard ratioer (HR) blev udregnet ud fra Cox proportional hazard modeller med mortalitet som udfald. Odds ratio (OR) blev beregnet ved hjælp af logistisk regressionsanalyse med mortalitet som udfald. Stevvis multivariabel logistisk regression blev anvendt til

Tabel 1. Oversigt over studier

	Population	Studieperiode	Patienter	Undersøgte variable
Studie I	Bispebjerg hoftefrakturdatabase	1. januar 1996 - 31. december 2012	7293	Kalium
Studie II	Bispebjerg hoftefrakturdatabase	1. januar 1996 - 31. december 2012	914	TSH
Studie III	Bispebjerg hoftefrakturbiobank	16. oktober 2008 - 17. juni 2011	698 355 præop. 343 postop.	CRP, suPAR, ferritin, transferrin, myoglobin, CK
Studie IV	Landsdækkende hoftefrakturpopulation	1. januar 2000 - 31. december 2012	113211	Hjertesvigt, iskæmisk hjertesygdom, iskæmisk apopleksi
	Bispebjerg hoftefrakturbiobank	16. oktober 2008 - 17. juni 2011	355 præop.	NT-proBNP, TnI, TK, TG, HDL-K, LDL-K

TSH: thyroide stimulerende hormon, CRP: C-reaktivt protein, suPAR: soluble urokinase plasminogen activating receptor, CK: kreatinkinase, NT-proBNP: N-terminal pro B-type natriuretisk peptid, TnI: troponin I, TK: total kolesterol, TG: triglydeider, HDL-K: high-density lipoproteins-kolesterol, LDL-K: low-density lipoproteins-kolesterol, præop: præoperativt, postop: postoperativt.

Figur 2 Ujusteret og justeret 30 dages mortalitet



Udtrykt ved HR: Hyperkaliæmi (kalium > 4,6 mmol/L), TSH_{median} (> 1,4 mIU/L), CRP (stigende kvartiler), suPAR (stigende kvartiler), Ferritin (stigende kvartiler) and Transferrin (faldende kvartiler). Udtrykt ved OR: NT-proBNP (stigende kvartiler), TnI (stigende grupper), TG (stigende kvartiler) and HDL-K (faldende kvartiler).

at skabe en prædictiv model baseret på de biokemiske markører. Resultaterne fra regressionsanalysen blev brugt til at estimere sandsynligheden for død 30 dage efter hoftefraktur P_{d30} .

Gennemgang af fund

Tabel 1 viser oversigt over de fire studier hvad angår anvendt population, studieperiode, antal patienter samt undersøgte variable.

Fælles for alle fire studier var en 30-dages mortalitet på omkring 10% samt en højere median alder for de patienter, som døde. De multivariable analyser viste signifikant øget risiko for 30-dages mortalitet for patienter med hyperkaliæmi, TSH-værdier over medianen, stigende kvartiler af CRP, suPAR, ferritin, NT-proBNP, TG og faldende kvartiler af HDL-K (Figur 2).

De biokemiske markører fra alle fire studier blev analysert i en fælles stepvis logistisk regressionsanalyse, resulterende i en samlet risikomodel indeholdende køn, kalium, CRP og NT-proBNP (Tabel 2).

Biomarkørerne fra alle fire studier blev analysert i en fælles stepvis logistisk regressionsanalyse, resulterende i en samlet risikomodel indeholdende køn, kalium, CRP og NT-proBNP.

Resultaterne fra regressionsanalysen blev brugt til at estimere sandsynligheden for død 30 dage efter hoftefraktur (P_{d30}):

$$P_{d30} = \frac{e^{(-10,0404 + 1,2643 \times KØN + 1,6239 \times K + 0,0101 \times CRP + 0,0024 \times NTproBNP)}}{1 + e^{(-10,0404 + 1,2643 \times KØN + 1,6239 \times K + 0,0101 \times CRP + 0,0024 \times NTproBNP)}}$$

Tabel 2. Samlet model efter stepvis logistisk regressionsanalyse

Variable	OR	95% CI	p-værdi
Køn	3.54	1.21-10.38	0.02
Kalium	5.07	1.87-13.75	0.001
CRP (per 50 mg/L)	1.66	1.12-2.45	0.01
NT-proBNP (per 50 pmol/L)	1.13	1.05-1.21	0.0002

OR: odds ratio from logistic regression, CI: confidence interval, CRP: C-reaktivt protein, NT-proBNP: N-terminal pro B-type natriuretisk peptid

KØN er kodet 0 for kvinder og 1 for mænd, K er kalium i mmol/L, CRP er i mg/L og NTproBNP er i pmol/L.

Eksempel: Mandlig patient med K=5,2 mmol/L, CRP=10 mg/L og NT-proBNP=40 pmol/L:

$$P_{d30} = \frac{e^{(-10,0404+1,2643 \times 1 + 1,6239 \times 5,2 + 0,0101 \times 10 + 0,0024 \times 40)}}{1 + e^{(-10,0404+1,2643 \times 1 + 1,6239 \times 5,2 + 0,0101 \times 10 + 0,0024 \times 40)}} = 0,47$$

Risikoen for at dø indenfor 30 dage efter en hoftefraktur ville for denne patient være 47% baseret på den logistiske regressionsanalyse af data i denne afhandling.

Konklusioner og perspektiv

Afhandlingen demonstrerer, at specifikke biokemiske markører for almindelige komorbiditeter er relateret til øget dødelighed hos hoftefrakturpatienter og at flere af disse måske kan anvendes til at prædkitere mortaliteten hos patienter med en hoftefraktur. De biokemiske markører kan kombineres til en samlet model, der kan bruges til at identificere patienter med øget risiko for at dø efter hoftefrakturen.

Hvorvidt de biokemiske ubalancer var til stede forud for hoftefrakturen og dermed, til dels, var årsag til traumet, eller om ubalancerne skyldes fysiologisk stress som følge af hoftefrakturen, er fortsat uafklaret. Fremtidige studier er nødvendige for at komme dette nærmere.

Afhandlingen har naturligvis sine begrænsninger. Den tid, der er gået, fra patienterne er faldet, til de er kommet ind på hospitalet, og til de har fået taget deres blodprøve, varierer naturligvis. Vi havde fået mere klare resultater, hvis denne tid havde været ens for alle. Dette er dog nærmest umuligt at gøre i praksis, da det, af naturlige årsager, er vidt forskel-

ligt, hvor lang tid der går, før patienter indlægges efter deres fraktur.

De forskellige registre er omfattende og indeholder en masse nyttige oplysninger. Desværre er der alligevel flere informationer, der ikke findes, som kunne være confounders, blandt andet patienternes ryge-og alkoholvaner. Det har derfor ikke været muligt at justere for disse i vores beregninger.

Derudover er registrene ikke stærkere end den information, der tastes ind i dem. Kvaliteten af data afhænger af de personer, der rapporterer blandt andet diagnosekoder og medicin opdateringer. Hertil kommer, at det kun er diagnoser i forbindelse med hospitalskontakter, der registreres. Man kan derfor spekulere i, om vi overser nogle patienter, når vi undersøger for komorbiditeter, såfremt disse kun behandles i den primære sektor. Dog er mange af diagnoserne, der anvendes i dette studie og til beregning af CCI af sådan en sværhedsgrad, at man må forvente løbende kontakt til hospitalet. Det kan dog ikke garanteres. I så fald vil vi have underestimeret forekomsten af komorbiditeterne.

Slutteligt er det værd at nævne, at det ville have været ideelt med information om patienternes dødsårsag. Desværre er dødsårsagsregisteret i Danmark ikke af god nok kvalitet, til at lave disse beregninger. Det er de færreste patienter, der bliver obduceret og dødsårsagen, der bliver registreret på sygehuse, er derfor mere et kvalificeret bud end den reelle sandhed.

Til manuskriptforfattere

Utfyllende forfatterinstruksjoner finnes på hjemmesiden, <http://www.nfkk.org/klinisk-biokemi-i-norden/instruktioner>. Litteraturhenvisninger (maksimalt 20) nummereres i den rekkefølge de angis i manuskriptteksten og skrives i Vancouver-stil, men med bare de tre første forfatterne. Dersom artikkelen har mer en tre forfattere listes de tre første etterfulgt av "et al". Forfatternes eternavn skrives først, deretter initialer (for og mellomnavn), forfatterne skiller ved komma og punktum settes etter siste forfatters initialer evt. etter "et al". Punktum brukes også etter tittel på artikkelen. Journalnavn forkortes som angitt i Pubmed, liste over forkortelser finnes i LinkOut Journals. Etter journalforkortelsen følger et mellomrom, års-tall 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. Dersom det er flere enn 20 referanser, må forfatteren velge ut de 20 viktigste som skal stå i bladet. De øvrige skal nummereres kronologisk i teksten, men leserne må kontakte forfatteren for å få dem.

Eksempler

Journal artikkel med inntil tre forfattere:

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

Journal artikkel med mer enn tre forfattere:

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

Abstrakt:

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

Bok kapitler:

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

PhD teser:

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

On-line publisert artikkel som ennå ikke er trykt:

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

Supplement:

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

Internett kilde:

- American Association for Clinical Chemistry. AACC continuing education. <https://www.aacc.org/education-and-career/continuing-education> (Tilgjengelig april 2020).

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

Nordisk Forening for Klinisk Kemi (NFKK)

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

Det nåværende styre består av: Lise Bathum (København), Line Rode (København), Anna Linko-Parvinen (Turku), Eeva-Riitta Savolainen (Oulu), Ólöf Sigurdardottir (Akureyri), Leifur Franzson (Reykjavík), Yngve Thomas Bliksrud (Oslo), Per Bjellerup (Västerås), Ivar Tjernberg (Kalmar), Maria Averina (Tromsø). **Formann i NFKK:** Henrik L. Jørgensen (København).

Redaktionen för Klinisk Biokemi i Norden

Hovedredaktör: 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

Overlege Helle Borgstrøm Hager
Sentrallaboratoriet
Sykehuset i Vestfold, Postboks 2168
3003 Tønsberg
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



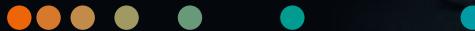
NFKK

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

Addressing the COVID-19 workflow challenge

A comprehensive, multidisciplinary workflow solution

siemens-healthineers.com



SARS-CoV-2 Total Assay

The SARS-CoV-2 Total (COV2T) Assay detects both IgM and longer-lasting IgG antibodies with high sensitivity for recent and prior infection. COV2T specifically detects antibodies that recognize the part of the virus, called the receptor binding domain (RBD), that binds to the host human cell.

SARS-CoV-2 IgG Assay

With recovery, IgM antibodies disappear while IgG to SARS-CoV-2 antibodies remain for a period of time. The SARS-CoV-2 IgG (COV2G) Assay specifically identifies IgG to the RBD, and may indicate some level of protection. Antibodies to the RBD are a focus of several vaccines in development. Should these vaccines prove efficacious, testing for the RBD IgG could help identify those who have antibodies from a recovered infection versus those likely to more immediately benefit from vaccination.



The coronavirus (SARS-CoV-2) pandemic continues to confront health-care professionals around the world with unprecedented clinical and operational challenges. To effectively diagnose and treat the many clinical complications that often accompany a COVID-19 diagnosis, labs need a comprehensive workflow solution to optimize testing for the detection, prognosis, treatment, and follow-up of COVID-19 patients.