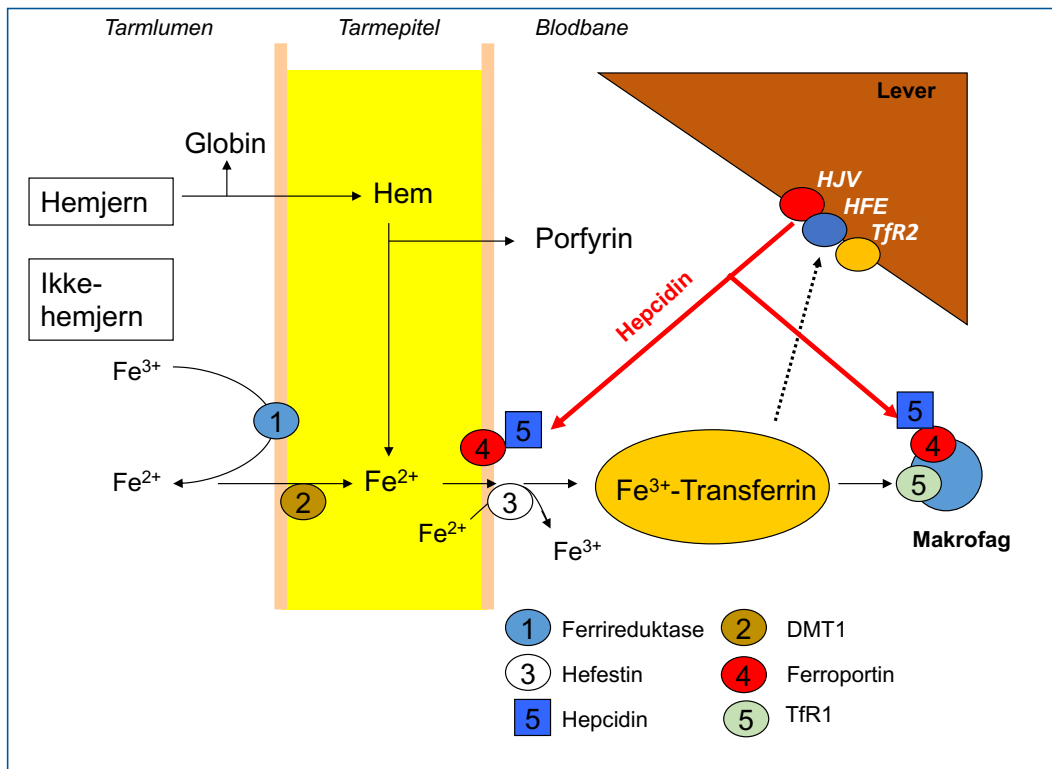


Klinisk Biokemi i Norden



Clinical Mass Spectrometry

Simplifying accuracy every day

Our proven platforms Enable your work

Confidently expand the scope of your clinical laboratory's capabilities with a portfolio of analyzers and LC-MS/MS medical devices from Thermo Fisher Scientific. Analytical instrument performance data can be demonstrated for a range of compounds in the following areas of laboratory medicine:

- Endocrinology
- Transplant diagnostics
- Clinical toxicology
- Therapeutic drug monitoring
- Bone metabolism
- Clinical metabolomics
- Steroid analysis
- Inborn errors of metabolism
- Clinical biomarkers
- Special vitamins



Find out more at thermofisher.com/simplifcms

IVD In Vitro Diagnostic Medical Device

© 2021 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries. Thermo Fisher Scientific products are distributed globally so uses, applications, and availability of product in each country depend on local regulatory marketing authorization status. **D22358-02-EN 1221M**

thermo scientific

INDHOLD

Leder: Kampen mot overforbruk av laboratorieprøver fortsetter	4
<i>Helle B. Hager</i>	
Formandens spalte	7
<i>Henrik L. Jørgensen</i>	
The Nordic Congress is cancelled, but the Astrup prize 2022 remains	8
<i>Lars Melholt Rasmussen</i>	
Diskussionsforum	8
<i>Anders Kallner</i>	
Helsingprisen for 2021 tildeles Mie Samson	10
<i>Helle B. Hager</i>	
NFKK course on Helene August 2022.	12
<i>Per Simonsson</i>	
Hemokromatose, fra sjelden og alvorlig sykdom til hyppig og ufarlig tilstand.	13
<i>Tor-Arne Hagve</i>	
Automatiseret kvantificering af ADAMTS13 aktivitet ved mistanke om Trombotisk Trombocytopenisk Purpura.	20
<i>Konstantinos Dimopoulos, Jens P. Gøtze</i>	
Bondböna (Vicia faba) och akut hemolys: en egenartad koincidens	30
<i>Gunnar Ronquist</i>	
Mulibery nanism – ett belysande exempel på hur det finländska sjukdomsarvet erbjuder	34
<i>Susann Karlberg, Henrik Alfthan</i>	
Theranos – ett diagnostikabolags uppgång och fall.	38
<i>Anders Larsson</i>	
Summary of an evaluation organised by SKUP: Afinion 2 Analyzer for measurement of HbA1c	39
<i>Dår Kristian Kur</i>	

Front page:

Forenklet fremstilling av regulering av jernstoffskiftet (fra artikkelen om hemokromatose side 13).

Leder: Kampen mot overforbruk av laboratorieprøver fortsetter

Helle Borgstrøm Hager



Vi tok i bruk automasjonslinje ved mitt laboratorium i 2017. Således skulle vi vært godt rustet for å håndtere den årlige økningen i antall bestilte analyser. Fra 2020 til 2021 økte antall utførte analyser innen medisinsk biokjemi på inneliggende pasienter med hele 11%. Antallet rekvisisjoner økte også tilsvarende. Det siste merket vi godt. Ved mitt sykehus er det nemlig bioingeniørene som tar blodprøver på inneliggende pasienter. Analysene bestilles elektronisk gjennom pasientjournalssystemet og det brukes i stor grad analysepakker (som er definert i samarbeid mellom de kliniske avdelinger og laboratoriet). Avdelingene betaler ingenting for analysene de bestiller; laboratoriet får penger i rammen fra Staten og det er ingen intern debitering hvis de kliniske avdelinger overskrider forventet antall bestilte analyser. Svært mange avdelinger bestiller blodprøver daglig på sine pasienter, selv om pasientene både klinisk og laboratoriemessig er stabile. Analysering kan automatiseres, men det kan ikke blodprøvetaking.

Min avdelingsjef og jeg bestemte oss for å sende en julehilsen som e-post til alle legene rett før jul. Der innledet vi med å takke for samarbeidet i året som snart var omme og ønsket alle våre rekvirenter en riktig god jul. Deretter beskrev vi økningen i blodprøvebestillinger – med økte svartider som resultat - og ba dem om å vurdere følgende:

For å kunne yte en best mulig service, er vår julebønn til dere rekvirenter at dere husker at:

- Alle blodprøver som bestilles bør ha en mulig terapeutisk konsekvens
- Økt antall blodprøver øker risiko for resultater utenfor referanseintervallene også hos friske pasienter
- Hyppige blodprøver reduserer hemoglobin og gir økt risiko for transfusjonsbehov
- Blodprøvetakingen tar lenger tid jo flere pasienter som må stikkes. Dette forsinker pasientbehandling og previsitter

- Mange pasienter opplever blodprøvetaking som smertefullt

Dere kan bidra ved å:

- Unngå å bestille daglige blodprøver fremover i tid
- Etterbestille analyser istedenfor å ta nye blodprøver
- Samle opp flere analyser til samme prøvetakings-tidspunkt
- Hvis klinisk god respons er CRP-kontroll sjelden nødvendig

Overforbruk av laboratorieprøver er et velkjent problem, og det har vært økt fokus på dette og overforbruk generelt i helsevesenet gjennom den såkalte Choosing Wisely kampanjen. Den internasjonale Choosing Wisely-kampanjen startet i USA i 2012, og har siden spredt seg til en rekke andre land. På norsk heter kampanjen «Gjør kloke valg». Hensikten er å redusere overbehandling og overdiagnostikk i helsevesenet.

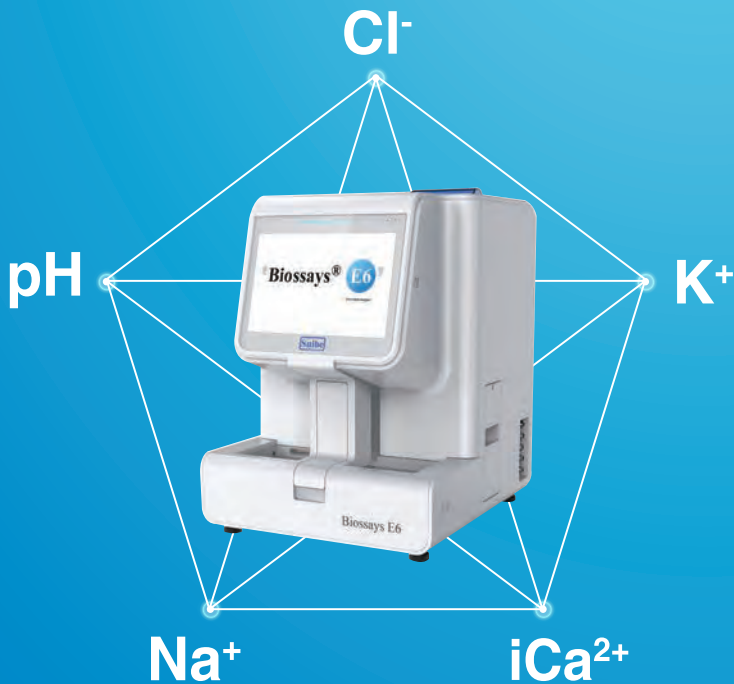
En rapport fra Storbritannia fra 2006 viste at antall laboratorieprøver økte med ca. 10 % per år og at ca. ¼ av prøvene var unødvendige kontroller (1). En australsk studie fant at bare 32 % av de bestilte laboratorieundersøkelsene ble vurdert til å ha en betydning for pasientbehandlingen (2). Flere ulike strategier har blitt valgt av laboratorier – med vekslende hell - for å redusere unødvendig rekvirering (3-6), for eksempel:

- Undervisning
- Bruk av informasjonsmateriale som e-post, plakater, lommekort m.m. som minner om å begrense laboratoriebestillinger og at hver bestilling skal ha en klinisk indikasjon.
- Hver lege eller avdeling tildeles et «tak» for hvor mange laboratorieanalyser de kan bestille per måned/år.
- Erfarne leger må godkjenne blodprøvebestillinger fra yngre, uerfarne leger
- Det legges inn sperrer i laboratorierekvireringsverktøyet som gjør at rekvirentene ikke kan bestille kontroll av utvalgte analyser før det har gått et visst intervall siden siste bestilling.

Biossays® E6

Welcome to the Fully-automatic New Era of
iCa²⁺ Solution

- Thoughtput: 60 samples / hour
- 30 samples can be loaded at one time, giving you walk-away analyzing
- Connectable to total laboratory automation system (TLA / LAS)[^]
- 5 electrodes as per request of any combination



Using cap-piercing pipettor to break through the rubber, avoiding loss of CO₂ during sample handling lowering the calcium ion concentration in vitro from what it was in vivo.

[^]Available in the near future

Biossays® is trademark of Snibe. All other product names and trademarks are the property of their respective owners.



DiaSystem
Clinical Chemistry – our passion

Distributor in Scandinavian
DiaSystem Scandinavia AB Datorgatan 3, 561 33 Huskvarna, Sweden

Telephone
+46-36-126220

Website
www.diasystem.se

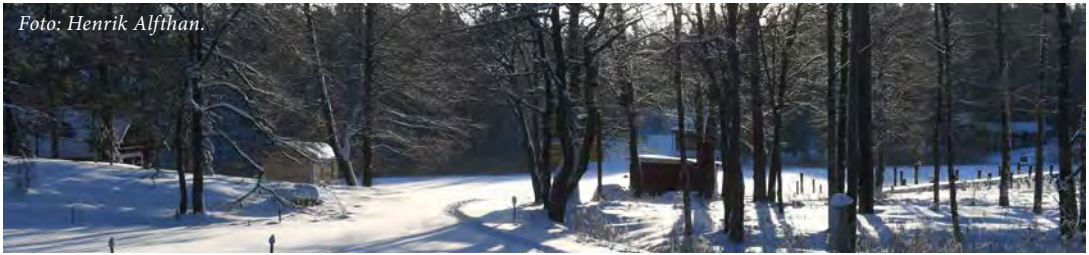
E-mail
info@diasystem.se

www.snibe.com

sales@snibe.com



Foto: Henrik Alfthan.



- Det etableres såkalte refleksanalyser der laboratoriet automatisk utfører en eller flere analyser ut fra en bestemt algoritme, avhengig av resultatet av den første analysen. For eksempel kan TSH-refleks benyttes til å begrense antall unødvendige analyser av fritt T4 og fritt T3.

E-posten vår gikk ut til ca. 700 leger fra medisinske og kirurgiske fag. Jeg fikk svar fra tre leger, en barnelege, en gastromedisiner og en lege fra akuttmottaket. Alle takket for hyggelig og tankevekkende mail. En skrev følgende:

Takk for hyggelig julehilsen! Ønsker deg og til alle dine kollegaer en fin jul jeg og!

Forresten helt enig med deg angående punktene om hvordan man burde redusere unødvendige blodprøver. Jeg syntes dette burde gjøres på vanlige hverdager også. Jeg er egentlig ofte overrasket over hvor mange unødvendige blodprøver man bestiller. En innleggelse betyr ikke automatisk at man MÅ ta blodprøver hver eneste dag. Jeg hadde en gammel sjef da jeg jobbet i utlandet på et universitetssykehus. Hvis vi unge leger ikke kunne begrunne indikasjonen for en blodprøve (hva er konsekvensen?) på visitten ble det dårlig stemning for å si det sånn....

Det finnes altså håp

Nå planlegger vi en kampanje med fokus på riktigere bruk av laboratorieprøver. Vi kommer til å «stjele» litt fra kampanjen de har startet i Tromsø ved Universitetssykehuset i Nord-Norge som de har kalt «Ikke stikk meg uten grunn» (7). Prosjektet startet opp med en pilot høsten 2019 på tre kirurgiske avdelinger, og bestod av undervisning, samtaler med leger og sykepleiere med refleksjon rundt egen prøvebestillingspraksis og etablering av arbeidsgrupper for gjennomgang av analysepakker på avdelingene. Avdelingene fikk i tillegg jevnlig utsendelse av blodprøvestatistikk. I Tromsø så de en markant nedgang i antall rekvisisjoner etter pilotprosjektet på ca. 20 %. Prosjektet utvides

nå til alle avdelingene på sykehuset med etablering av interne prosjektledere på hver avdeling. Virkemidlene består blant annet av utarbeidelse av lommekort, plakater og informasjon på intranett.

Er det noen av KBNs lesere som har erfaringer fra prosjekter for å redusere overforbruk av laboratorieprøver? Da er dere hjertelig velkommen til å dele deres erfaringer gjennom å skrive i KBN.

Referencer

1. Carter C. Report of the Review of NHS Pathology Services in England. Independent review for the Department of Health. Report no. 275515, 2 August 2006. London: Department of Health.
2. Miyakis S, Karamanof G, Liontos M, et al. Factors contributing to inappropriate ordering of tests in an academic medical department and the effect of an educational feedback strategy. *Postgrad Med J* 2006;82:823–9.
3. Fryer AA, Smellie WS. Managing demand for laboratory tests: a laboratory toolkit. *J Clin Pathol* 2013;66:62-72.
4. Thurm M, Craggs H, Watts M, et al., Reducing the number of unnecessary laboratory tests within hospital through the use of educational interventions. *Ann Clin Biochem* 2021;58:632-7.
5. Munk JK. Mulige måder at redusere unødige analyser – HbA1c og vitamin D som eksempel. *Klinisk Biokemi i Norden* 2021;2:18-9.
6. Schedvin, G, Omran A. Automatiserad reflexanalys måste införas på rätt sätt. *Läkartidningen* 2019;116:FLMS.
7. https://www.youtube.com/playlist?list=PL-Njezis9juV6dYtPnyrvsAKh_YYD5nUq9 (se på presentasjonen fra 17. november)

Formandens spalte

Henrik L. Jørgensen

Formand i NFKK



I sidste nummer skrev jeg på denne plads, at kongressen på Island helt sikkert ville blive afholdt som planlagt. Jeg tog desværre fejl. Endnu en gang kom covid-19 pandemien på tværs af vores planer i form af den nye, mere smitsomme omikron variant.

Det uforpligtende spørgeskema om deltagelse i kongressen, vi udsendte til alle medlemmer af de 5 nationale selskaber, blev desværre kun besvaret af 180 personer. Svarerne delte sig ligeligt i tre grupper: Kommer ikke, kommer måske og kommer. Dette er langt under det påkrævede antal deltagere for, at kongressens økonomi kunne hænge sammen. På tilsvarende vis var der kun kommet meget få tilkendegivelser fra industrien og fra potentielle foredragsholdere.

Den islandske kongreskomité så derfor ingen anden udvej end at aflyse kongressen, naturligvis med fuld opbakning fra NFKKs bestyrelse.

Listen over aflysninger stopper desværre ikke her. NFKKs seneste bestyrelsesmøde, der skulle have været holdt i Norge i januar måned, blev aflyst, og det planlagte, nye finske kursus, Quality Hike, er udskudt til 2023 eller 2024.

Alt er dog ikke aflyst. Både Helenekurset i Sverige og det fællesnordiske kursus i Danmark planlægges

fortsat afholdt i år. Astrup konkurrencen afholdes virtuelt på same måde som i 2020. Foredragene vil efterfølgende blive gjort tilgængelige for alle på NFKKs hjemmeside. Læs mere om konkurrencen på side 8 i dette nummer af KBN.

Den 1. februar blev covid-19 i Danmark nedklassificeret, så den ikke længere betragtes som en såkaldt samfundskritisk sygdom. Dermed bortfaldt alle coronarestriktioner, så som forsamlingsloft, mundbind, tidlig lukning af restauranter og barer mm. Indtil videre går det godt, forstæet på den måde at de danske hospitaler ikke er i nærheden af at være overbelastet pga covidpatienter. I skrivende stund er der kun 34 patienter på intensivafdelinger i Danmark med covid-19. Vi må krydse fingre for, at denne udvikling holder, og at andre lande på tilsvarende vis kan genåbne, så vi forhåbentligt fremover kan slippe for flere aflysninger.

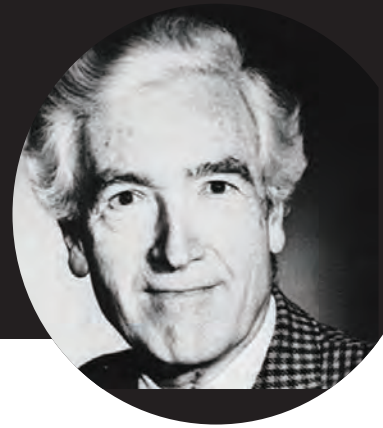
Den næste nordiske kongres skal holdes i Sverige i 2024. Jeg tør ikke én gang til skrive, at den helt sikkert bliver til noget, men jeg håber virkelig, at vi ikke de næste år skal kæmpe med flere bogstaver fra det ellers så smukke græske alfabet!

Lad mig slutte med et billede af det, som vi meget gerne skal komme tilbage til – nemlig åbningen af en velbesøgt nordisk kongres i klinisk biokemi! Billedet er fra den sidste, meget vellykkede kongres i Helsingfors i 2018.



Åbningsceremonien ved den 36. nordiske kongres i klinisk biokemi i 2018 i Helsingfors.

The Astrup Prize 2022 Call for abstracts



SIEMENS
Healthineers

The Nordic Congress is cancelled, but the Astrup prize 2022 remains! The deadline for abstracts is now 4th April

Lars Melholt Rasmussen, Chairman of the Astrup prize committee, lars.melholt.rasmussen@rsyd.dk

Unfortunately, the XXXVIII Nordic Congress in Clinical Biochemistry 10-13th May 2022, Reykjavik, Iceland has been cancelled. Luckily, we are still able to proceed with the Astrup Prize competition, since NFKK desires its implementation, and fortunately Siemens will sponsor the prizes also for an alternative 2022 competition.

The oral competition will this year be held as an online event, similar to the competition in 2020. The

details about the time point and rules for the online-oral competition will be announced later in KBN and on the NFKK website.

The deadline for receipt of abstracts is now Monday the 4th April 2022. All abstracts must include the applicant's C.V. also stating date of birth. Please refer to the NFKK-website concerning details for participation in the competition, <https://www.nfkk.org/stipendier-priser/astrup/>.

Diskussionsforum

Anders Kallner, Karolinska Universitets Hospital, anders.kallner@ki.se



Sedan 1997 existerar Diskussionsforum som samlar mer än 700 deltagare i de Nordiska länderna. Det lever vidare tack vara att deltagarna använder det för frågor, svar, funderingar och meddelanden kring gemensamma intressen. Den samlade kollektiva kunskapen

reagerar ofta snabbt.

Men vi har ett strukturellt problem. Deltagare avlider, flyttar och byter adress. Vi får ett felmeddelande att maillet inte kunnat levereras men vi saknar i praktiken möjligheter att följa upp vad som hänt, och vederbörande faller ur distributionslistan. Därför vill vi uppmana alla som ändrat adress - av vilken anledning som helst - och vill vara kvar på

Diskussionsforum, meddelar det så att ni inte faller ur systemet. Enklast är att sända Din nya adress till anders.kallner@ki.se så fixar vi det!

Naturligtvis är nya deltagare välkomna att också ansluta på samma väg!





IgA

IgM



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



Liver diseases

Primary biliary cholangitis Mitochondria 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

Hellsingprisen for 2021 tildeles Mie Samson

Helle Borgstrøm Hager



Hvert år velger redaksjonen den beste artikkelen som ble publisert i bladet det forutgående år. Både innhold og litterære kvaliteter granskes. Det skal være en artikkel som oppleves som god lesning innen vårt fag. Prisen ble opprettet for å hedre minnet om

KBNs grunnlegger, Kristoffer Hellsing.

Hellsingprisen for 2021 tildeles for andre år på rad til en lege fra Avdeling Blodprøver og Biokemi ved Aarhus Universitetshospital. Denne gangen går prisen til Mie Samson for artikkelen «Kolde facts om kryoproteiner» som kan leses i KBN nr. 2 2021. Prisen består som vanlig at et kunstverk. Artikkelen er meget velskrevet og beskriver hvordan man kan forbedre diagnostikken av kryoproteiner. Gjennom deltakelse på et eksternt kontrollprogram i regi av UK NEQAS for påvisning av kryoproteiner, forstod forfatteren at

hun hadde litt å lære om temaet. Dette medførte at hun deltok på et kurs i Birmingham i januar 2020, «Cryoglobulin, Analysis & Interpretation, Masterclass 2020». Etter kurset har de endret sine prosedyrer i Aarhus slik at kvaliteten på undersøkelsen nå er betydelig forbedret, og artikkelen beskriver hvordan man skal diagnostisere kryoproteiner og diskuterer svarrapportering. Teksten kan inspirere andre laboratorier til å gjennomgå sine prosedyrer for påvisning av kryoproteiner. Ved mitt laboratorium undersøkte vi tidligere bare for kryoglobulin, men har utvidet analyseprosedyren til å undersøke for kryofibrinogen etter å ha lest artikkelen.

Det var kun danske forfattere på pallplassen denne gangen. På andreplass kom artikkelen ”Spektrofotometrisk analyse af cerebrospinalvæske for diagnostisering af subaraknoidalblødning” av Anders Berg Wulff (Blad nr. 1 2021) og tredjeplassen gikk til Anne-Mette Hvas sin artikkel om vaksineindusert immunologisk trombotisk trombocytopeni (blad nr. 2 2021).



Hellsingprisvinneren 2021, Mie Samson. Kunstverket som Mie har valgt, har tittelen «Skyskraberne» av en lokal kunstner fra Ebeltoft, Lis Kohl, som også har laget en del utsmykning til byen.

SYSMEX ACADEMY APP

Your knowledge
centre to go



Growing your knowledge has never been easier

Sysmex Academy – the Sysmex eLearning portal – is now available as a mobile app for iOS and Android.

The Sysmex Academy app makes it easy to find courses that match your needs. You can access product trainings and webinars from your mobile device anytime, anywhere, even when offline. Better yet – it's free. To grow your knowledge, download the app in your preferred store.

Download the app in your preferred store to access the complete course catalogue on the go 24/7, also when offline.



www.nordic.sysmex-academy.com

Internal communication in your lab

– NFKK course on Helene, 2022

Per Simonsson, per.simonsson@med.lu.se



The proud ship Helene of Ystad will sail on and NFKK has approved a new course in 2022. This time the theme will be on how internal communication, in a challenging environment, can be used in the leadership of our speciality to deliver results. Focus will be on how to transform visions and goals into actions on a daily level.

There will be seminars, workshops and role plays putting the participants in action on a number of important aspects. New technologies will be discussed. Doctors and biochemists, preferably during training, who are working in laboratory medicine are welcome to join the crew.

Learning goals

- Learn different strategies, tools and pitfalls in communication to achieve your visions and goals.
- Learn what different methods and channels to apply in communication, and when to use them effectively.
- Gain practical experience in communicating to different groups of coworkers in the lab.
- Understand the importance of planning and evaluation of communication.
- Understand how communication is an integrated part of daily work in the lab.

Workshops will be arranged with practical training in different situations. There will be a lot of opportunities for discussions and networking.

The course will be held under basic conditions onboard the sailing vessel Helene and include shorter sailing trips in the waters off Malmö, Sweden. No naval experience is needed, but bring your rainproof gear! Professional crew is responsible for maritime passages and safety. Accommodation will also be onboard (don't forget your sleeping bag).

A maximum of 12 students can be admitted, so register early!

Dates: Thursday 220825 - Sunday 220828

Place: Öresund, with departure from Malmö, Sweden. Malmö can easily be reached by train or by air, via Copenhagen Airport.

Registration fee: 3 000 Danish kronor, including board and lodging. The Course is financially supported by NFKK.

Registration deadline is 1st April 2022. But, for the planning, please mail today to show your preliminary interest!

The seminars and workshops will be led by four colleagues with long experience of leading clinical laboratories.

For further information please contact Per Simonsson, per.simonsson@med.lu.se, +46730868915.

Information on agenda, teachers and registration can be found on the [NFKK homepage](#).

All hands on deck!



Seminar on deck 2019 (Photo: Per Simonsson).

Hemokromatose, fra sjelden og alvorlig sykdom til hyppig og ufarlig tilstand

Tor-Arne Hagve – Avdeling for Tverrfaglig laboratoriemedisin og medisinsk biokjemi, Akershus Universitetssykehus, Lørenskog – Klinikk for klinisk medisin, Universitetet i Oslo, Campus Ahus, Akershus universitetssykehus – tor.arne.hagve@gmail.com



Innledning

Hemokromatose er sykdommen som var sjelden og alvorlig, og ble hyppig og ufarlig. Dette er under forutsetning av at diagnosen blir stilt så tidlig at det ikke oppstår irreversible organskader og at behandling starter i rimelig tidlig alder.

Hensikten med denne artikkelen er først og fremst å fokusere på de ulike beslutningsgrenser som brukes i den biokjemiske utredning av arvelig hemokromatose. Det er meg bekjent ingen internasjonal konsensus for noen av de aktuelle parametere. Artikkelen beskriver også de siste års diagnostiske framskritt, ikke minst på gennivå.

Innledningsvis omtales årsaksforhold, epidemiologi, patobiokjemi, klinikk, utredning og behandling svært kortfattet. For mer detaljerte beskrivelser henvises til oversiktsartiklene (1,2).

Hemokromatose for Dummies

Årsaksforhold

Pasienter med hemokromatose har økt mengde jern i kroppen. Hos de fleste er årsaken arvelig og skyldes ulike mutasjoner som fra fødsel av fører til kontinuerlig økt opptaket av jern fra tarmen. Over tid akkumuleres jern i vitale organer (lever, hjerte, pankreas osv.) hvilket kan resultere i organsvikt og sykdom (ved 40-50 års alder). De aller fleste mutasjonene er relatert til HFE-genet og den hyppigste mutasjonen er p.C282Y som finnes hos 90% av pasientene med arvelig hemokromatose. I tillegg til mutasjoner i HFE-genet er det i løpet av de siste årene påvist andre mutasjoner relatert til jernstoffsiftet og til arvelig hemokromatose (se senere). Sekundær hemokromatose inkluderer patologisk høyt jerninntak, beta-thalassemia major, hemolytiske anemier og generelt ved tilstander som krever hyppige blodtransfusjoner.

Epidemiologi

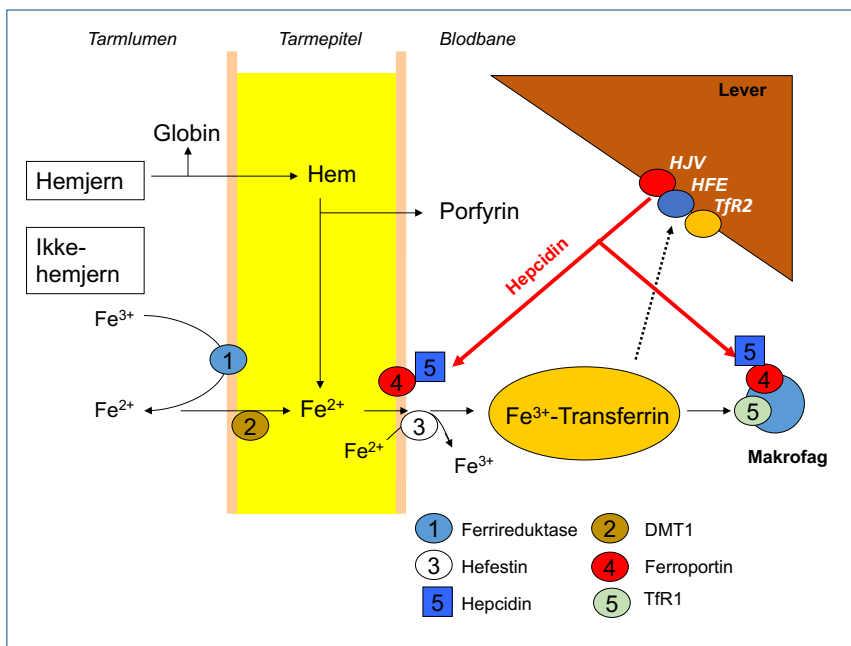
Studier av ulike folkegrupper tyder på at arvelig hemokromatose (p.C282Y) oppsto ved en mutasjon i Skandinavia for 2-4000 år siden. Dette estimatet er selvsagt usikkert og mutasjonen kan være betydelig eldre. Det er imidlertid en klar sammenheng mellom utbredelse av mutasjonen og vikingenes reiser (plyndringstokter) og bosetninger i Nord-Europa. Dette gjenspeiler at prevalensen for hemokromatose er høy i Nord-Europa og betydelig lavere i Sør-Europa. I Norge er prevalens for homozygot p.C282Y mutasjonen 0.75% og ca. 12% av befolkningen er bærere (3).

Patobiokjemi

Ved hemokromatose er det totale opptaket av jern i tarmen 1-3 g høyere per år enn behov. Dette medfører at det i voksenalder kan akkumuleres 40 g jern, som over tid blir lagret særlig i lever, men også i hjerte, ledd, hud og hypofyse.

Kroppen har ingen mekanismer for regulering av jernutskillelse og den totale jernomsetningen er derfor helt og fullt regulert via opptak av jern i tarmen. Det har lenge vært akseptert at reduserte jernlagre (anemi) resulterer i oppregulering av opptak av jern i tarmen, og at økte jernlagre medfører nedregulering. I tarmcellene reguleres opptaket av jern via påvirkning av membranproteinet ferroportin (jernporten) som transporterer jern fra enterocytten over i vevsvæske. Jern binder seg så til transferrin for videre transport til ulike vev (Fig 1).

De detaljerte mekanismer for dette ble først kjent da peptidet hepcidin ble vist å være «the missing messenger» mellom enterocytten i duodenum og hepatocytter (4). Når for eksempel jernlagrene i kroppen øker vil dette (økt transferrinbundet jern) senses av transferinreseptor 2 (Tfr 2) på levercellene. Ved en rekke vel beskrevne biokjemiske steg resulterer dette i økt produksjon av hepcidin som så signaliserer til enterocytten at jernopptaket skal reduseres. Hepcidin binder seg til ferroportin på enterocytten, komplekset internaliseres, ferroportintettheten avtar og jernopptaket hemmes.



Figur 1. Forenklet fremstilling av regulering av jernstoffskiftet (se tekst).

Heparidin i blod er lav ved jernmangel og høy ved jernoverskudd. Hvis hepcidineffekten blir for lav i forhold til størrelsen av jernlagrene (som ved hemokromatose), blir jernabsorpsjonen for høy. Litt enkelt kan dette oppsummeres med at p.C282Y mutasjonen i HFE-genet resulterer i nedsatt hepcidinproduksjon som så fører til at ferroportinmediert opptak av jern er økt allerede fra fødsel.

Symptomer og forløp

Symptomene er naturlig nok knyttet til grad av jernavleiring og hvilke organer som er affisert. Det klassiske symptombildet er levercirrhose, diabetes (fibrose i pancreas), bronsefarvet hud (økt antall melanocytter), kardiomyopati og hjertesvikt. Disse symptomene sees svært sjelden i dag, hvilket sannsynligvis skyldes mer fokus på tilstanden og flere og bedre diagnostiske verktøy. Tilstanden oppdages nå vanligvis såpass tidlig i forløpet at det ikke er utviklet irreversible organskader. Det er viktig at diagnosen stilles før utvikling av levercirrhose, ikke minst med tanke på å unngå utvikling av hepatom. På Rikshospitalet i Oslo ble det i årene 2008-2010 utført seks levertransplantasjoner med hemokromatose som

primærdiagnose, mens det i de siste ti-tolv år ikke har vært noen (personlig meddelelse).

I dag er det som oftest et tilfeldig økt ferritinnivå, rekvirert i forbindelse med annen utredning, som gir første mistanke om jernoverskudd. Da er det viktig at legen har arvelig hemokromatose i tankene. De fleste pasienter har oftest ingen åpenbare symptomer, eller de har kun lette leddsmerter, asteni og/eller økt nivå av ALAT som indikasjon på leverskade (de tre A-er: Asteni, Artralgi og ALAT). Andre symptomer som magesmerter, diabetes, impotens og hjertesvikt kan fortsatt observeres. Kvinner har ofte en langsommere sykdomsutvikling enn menn på grunn av naturlig jerntap i forbindelse med menstruasjon.

Diagnostikk

Ved mistanke om arvelig hemokromatose er det vanlig å først kartlegge jernstoffskiftet med undersøkelse av P-Ferritin, P-Transferrin og P-Jern. De vanligste funn ved hemokromatose er høy P-Ferritin, høy P-Jern, lav P-Transferrin og høy P-Transferrinmetning (Fig 2). Hvis slike endringer holder seg over tid og det ikke er andre åpenbare årsaker til jernoverskudd, taler det for at pasienten har en genotype som

disponerer for arvelig hemokromatose. Hvis den videre utredning viser at pasienten er homozygot for p.C282Y-mutasjonen, har pasienten med stor sannsynlighet arvelig hemokromatose. Hvis genotypen er dobbelt heterozygot med p.H63G eller p.S65C, blir diagnosen arvelig jernoverskudd styrket, men ikke bekreftet.

P-Transferrinmetning har vist seg å øke tidligere i sykdomsforløpet enn de andre jernparametrene ved jernoverskudd. P-Ferritin gjenspeiler i noen grad kroppens jerninnhold, ikke minst i lever, men er som kjent påvirket av ulike forhold som betennelsestilstander, kreftsykdom og alkoholmisbruk, hvilket kompliserer tolkningen. I tiden før mutasjonsundersøkelser var tilgjengelig ble det ofte utført leverbiopsi for å påvise jern i hepatocytene. Gentester har i stor grad gjort leverbiopsi overflødig, bortsett fra hos de pasientene (ca. 10%) som har kliniske funn og jernparametere som er forenelig med hemokromatose, men som ikke har mutasjoner i HFE-genet.

Behandling

Behandlingen av arvelig hemokromatose er i all sin enkelthet årelating (veneseccio). Det er ingen formell

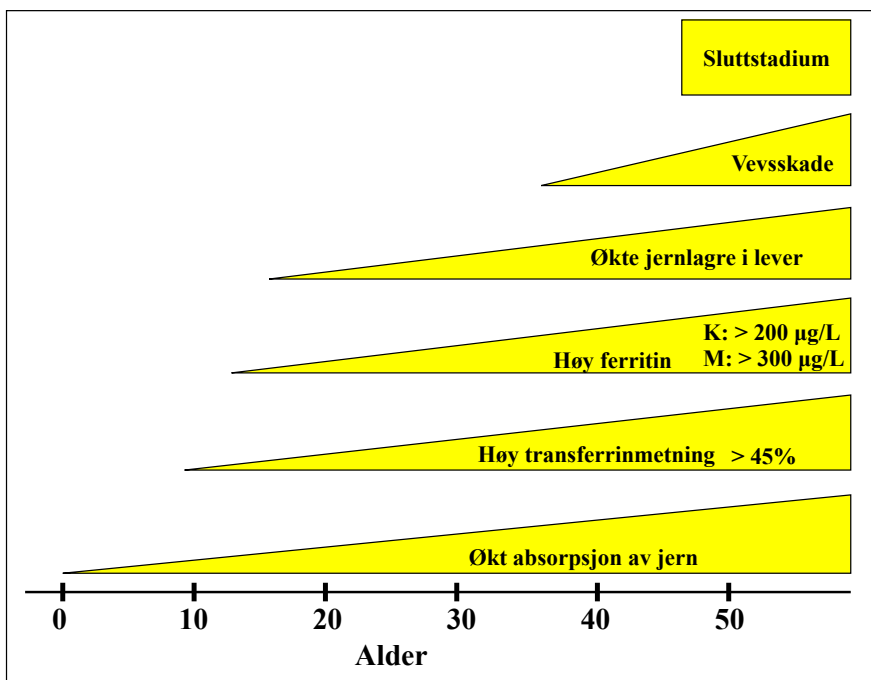
konsensus om når årelating skal starte og hvordan behandlingen skal styres over tid, hverken for arvelig eller sekundær hemokromatose (se senere).

Det du kanskje ikke vet om arvelig hemokromatose

1. Beslutningsgrenser for ulike blodanalyser ved utredning og oppfølging av arvelig hemokromatose

Ferritin, transferrinmetning

I de fleste tilfeller starter utredning av hemokromatose med en høy ferritinverdi som oppdages tilfeldig. Spørsmålet er hvor høy en ferritinverdi skal være for å starte utredning? Ved gjennomgang av rutineene ved ulike laboratorier, og av noen sentrale anbefalinger (1,2,5,6), er det gjennomgående at P-Ferritin over 200 µg/L hos kvinner og over 300 µg/L hos menn som skal følges opp med tanke på hemokromatose. Dette er verdier som i stor grad er sammenfallende med øvre referanseområde for P-Ferritin. Det kan være hensiktsmessig å bruke øvre referansegrense på det utførende laboratoriet som beslutningsgrense. Nyere undersøkelser viser



Figur 2. Oversikt over relative endringer i jernparametere og jernavleiring i forløpet av ubehandlet hemokromatose.

at P-Transferrinmetning med stor sannsynlighet er en bedre diagnostisk parameter enn P-Ferritin, ikke minst fordi P-Transferrinmetning er mer spesifikk ved samme sensitivitet og økningen kommer tidligere i livet (Fig 2). I de aller fleste laboratorier er P-Transferrinmetning > 45% (1,7) i to prøver vurdert som en sterk indikator for hemokromatose. Det er vist at 98% av alle pasienter med arvelig hemokromatose har en P-Transferrinmetning >45% (8). En normal P-Ferritin, som definert over, kombinert med P-Transferrinmetning < 45% har en negativ prediksjonsverdi på 97% for å utelukke jernoverskudd.

2. Når skal behandling starte?

Det er vel akseptert at venesectio er den enkleste, billigste og mest effektive form for behandling for arvelig hemokromatose. Ved enkelt litteratursøk er det ikke funnet evidensbaserte studier som avklarer når årelating skal starte, hvilke ferritinnivåer som skal initiere tapping, tidsaspektet for nedtapping, eller ønsket ferritinnivå ved vedlikeholdsbehandling. Den generelle oppfatning er at hos pasienter med påvist arvelig hemokromatose skal venesectio starte når P-Ferritin er over øvre referansegrense. Dette til tross for at det er vist at pasienter med P-Ferritin <1000 µg/L på diagnosetidspunkt sjeldent får varig organskade (9). Men det er også kjent at opptil 20-30% av pasienter med hemokromatose over tid vil få ferritinnivåer >1000 µg/L uten behandling. I den litteraturen som her er gjennomgått varierer beslutningsgrensen for oppstart av venesectio fra 300 µg/L til 1000 µg/L. Det er vist i noen studier at tidlig flebotomi bremser utvikling av fibrose, reduserer fibrotisk vev (5) og har en gunstig effekt på en del kliniske forhold som inkluderer asteni, hudforandringer og transaminaser (10). Med bakgrunn i dette bør terskel for oppstart av venesectio være rimelig lav. Kanskje er grensen P-Ferritin >500 µg/L en gylden middelvei? Som nevnt tidligere er det ingen evidensbasert anbefaling for målet med blodtapping. Det synes imidlertid vel etablert at målet med initialbehandlingen er å få P-Ferritin ned mot 50 µg/L og at det i vedlikeholdsfasen tilstrebes å holde P-Ferritin mellom 50 og 100 µg/L. Erfaringsmessig medfører dette behov for 3-4 tappinger pr år. Det er imidlertid også foreslått at initial tapping bør stoppe når P-Ferritin når øvre referanseomgrense og at P-Ferritin holdes på dette nivået ved vedlikeholdstapping (6). Et av rasjonale for dette forslaget er at lave ferritinnivåer hemmer

Klassifikasjon av arvelige former for hemokromatose

HFE hemokromatose (Type 1) er den vanligste arvelige variant av hemokromatose og skyldes en mutasjon (p.C282.Y) i HFE-genet som fører til livslang økt opptak av jern fra tarm og jernavleiring i ulike organer, særlig i lever. Ved HFE-hemokromatose kan det muterte HFE-proteinet ikke binde seg til transferrinreseptor 2 (TfR2) og kan dermed ikke starte signalkaskaden som regulerer hepcidinproduksjonen. Personer som er heterozygote for p.C.282.Y kan ha noe øket P-Ferritin og P-Transferrinmetning, men får sjelden alvorlige jernavleiringer.

Juvenil hemokromatose (Type 2A og 2B) skyldes henholdsvis mutasjon i hemujuvelingenet (HJV) eller HAMP-genet (hepcidin). Både hemujuvelin og hepcidin er sentrale i regulering av jernstoffsiftet i lever. Hemojuvenil-hemokromatose er svært sjelden (1:5 mill) og er karakterisert av betydelig redusert hepcidinproduksjon, tidlig sykdomdebut (< 30 år) og betydelig jernavleiring i lever og hjerte. Yngre personer kan utvikle alvorlig hjertesvikt pga. jernoppbygning i hjertet.

Transferrinreseptor-hemokromatose (Type 3) skyldes en sjelden (1:6 mill) mutasjon i TfR2-genet som resulterer i lavt hepcidinnivå og har et symptom-bilde som ligner det ved HFE-hemokromatose.

Ferroportin-hemokromatose (Type 4A og 4B) Mutasjon 4A er en sjelden autosomal dominant lidelse (ferroportinsykdom) med bred utbredelse og som blant annet finnes i Asia. Mutasjonen fører til «loss of ferroportin function» med nedsatt frigjøring av jern fra makrofager og med jernoppbygning i det mononukleære fagocyttsystemet (RES). P-Ferritin er ofte betydelig økt og P-Transferrinmetning er lav eller innen referanseområdet. Avleiring av jern i ulike vev og organskade sees ikke. Ved venesectio kan det oppstå jernmangel. Type A er for øvrig den eneste dominante mutasjon som er relatert til jernstoffsiftet. Ferroportin-hemokromatose Type B er sjelden og skyldes en mutasjon som hindrer hepcidinmediert internalisering og nedbrytning av ferroportin, med en fenotype som ligner Type 1.

syntese av hepcidin, hvilket kan resultere i uønsket økt jernabsorpsjon.

3. Hvor stort er jernoverskuddet?

Når diagnosen hemokromatose foreligger, må størrelsen på jernoverskuddet og risiko for leverfibrose kartlegges. P-Ferritin er i utgangspunktet en sensitiv test for størrelsen på jernlagrene i kroppen, men har lav spesifisitet fordi høy P-Ferritin som nevnt kan skyldes en rekke andre faktorer enn jernoverskudd. Det er generelt akseptert at verken P-Ferritin eller P-Transferrinmetning nødvendigvis gir riktig informasjon om jernlagrenes størrelse og dermed heller ikke om risiko for cirrhoseutvikling. Flere studier har konkludert med at pasienter med P-Ferritin <1000 µg/L veldig sjelden utvikler cirrhose (6), og at grensen for videre utredning er P-Ferritin >1000 µg/L (11). Tidligere var leverbiopsi eneste måte å kvantitere jerninnhold i levervev. MR-undersøkelsen med T2*-vekting har i økende grad erstattet leverbiopsi ved kvantitering av patologisk jernoppbygning i lever (og andre organer). T2* er også særdeles nyttig ved diagnose og oppfølging av sekundære årsaker til jernoverskudd, for eksempel ved utredning av myokardskade hos pasienter med beta-thalassemia major.

4. Andre mutasjoner i HFE-genet

Mutasjonene p.H63G og p.S65C finnes også på HFE-genet og sees av og til ved hemokromatose, men da bare i dobbelt heterozygot form med p.C282Y. Den hyppigste formen er p.C282Y/H63D som sjelden er årsak til jernoverskudd annet enn i kombinasjon med sekundære faktorer som alkoholmisbruk og metabolsk syndrom. Mutasjonsanalyse for p.C282Y/H63D var tidligere på det faste repertoar for utredning av arvelig hemokromatose, men trenden er at den kuttes ut som diagnostisk primærparameter (12). Analysen utføres i spesiallaboratorier.

5. Arvelig hemokromatose er ikke bare relatert til HFE-genet

I løpet av de siste 15-20 år er det funnet andre mutasjoner enn p.C282Y (og p.H63G og p.S65C) som også resulterer i arvelig form for jernoverskudd. Mutasjonene som gruppe betegnes som «non-klas-sisk hemokromatose» og er i Skandinavia betydelig sjeldnere enn HFE-hemokromatose. Slike gentester utføres kun på få sentra internasjonalt. Dette er tester som kan være nyttige en sjelden gang når andre

undersøkelser ikke fører fram, og som man må kjenne til. Det gjelder da særlig juvenil- og ferroportin-hemokromatose (se Ramme).

6. Sekundær hemokromatose

Ved sekundær hemokromatose er det økt opptak og lagring av jern som ikke er forårsaket av kjente mutasjoner (12). De viktigste årsaker til sekundær hemokromatose er hyppige blodtransfusjoner, overforbruk av jerntabletter, beta thalassemia major, sigdcelleanemi, sykdommer med ineffektiv erytropoies og alkoholmisbruk. Ved disse tilstandene er P-Ferritin økt og som oftest er også P-Transferrinmetning økt, men kan i noen tilfeller være innen referanseområdet. Sekundær hemokromatose omfatter viktige differensialdiagnoser ved funn av økt jernavleiring og uten funn av mutasjoner relatert til jernomsetning.

Hyperferritinemi

Begrepet hyperferritinemi omfatter alle tilstander med økt P-Ferritin, enten det er med jernoverskudd eller ikke.

Tabell 1. Årsaker til hyperferritinemi (1,13)

Økt P-ferritin og økte jernlagre	Økt P-ferritin uten økte jernlagre
Arvelig hemokromatose	Malignitet
Hyppige transfusjoner	Hyperferritinemi-katarakt syndrom
Kronisk leversykdom (alkoholisk, NAFLD m.fl.)	Akutte og kroniske infeksjoner
Talassemier	Akutte og kroniske betennelsestilstander
Atransferrinemi	Autoimmune sykdommer
Ferroportinsykdom Type 4B	Leversykdom (akutt hepatitt m.fl.)
Aceruloplasminemi	Kronisk alkoholisme
	Metabolsk syndrom

Det er viktig å være bevisst at arvelig hemokromatose ikke på langt nær er den vanligste årsak til hyperferritinemi; 90% av alle pasienter med høyt P-Ferritin har ikke jernoverskudd (14) og de fem hyppigste årsaker til P-Ferritin-økning utgjør til sammen 90% av alle (15). Det er da snakk om:

- **kronisk alkoholisme:** P-Ferritin ofte <1000 µg/L, P-Transferrinmetning innen referanseområdet eller økt
- **betennelsestilstander:** Avhengig av alvorlighetsgrad er P-Ferritin ofte i området 500-700 µg/L, men kan være opp til 10 000 µg/L (septisk sjokk)
- **leversykdom:** Omfatter blant annet hepatitt med ferritinnivå opp til 10 000 µg/L, ofte (men ikke alltid) med samtidig økt P-Transferrinmetning
- **metabolsk syndrom:** P-Ferritin i størrelsesorden 500-1000 µg/L, P-Transferrinmetning er vanligvis innen referanseområdet
- **hemokromatose** (se omtale tidligere)

I studien referert til ovenfor (15) var inklusjonskriteriet P-Ferritin \geq øvre referanseområde hos pasienter utredet i primærhelsetjenesten. I en annen studie der pasientene ble rekruttert fra hele sykehusets aktivitet med inklusjonskriteriet P-Ferritin \geq 1500 µg/L, fant man at nyresvikt var den hyppigste årsak til hyperferritinemi for sykehuset totalt sett, og at alkoholmisbruk var hyppigst for pasientgruppen fra førstelinjetjenesten (16). Arvelig hemokromatose er årsak til høyt P-Ferritin hos ca. 9 % av pasienter med hyperferritinemi (15).

Jerninnhold i lever kvantiteres nå enkelt med MR/T2*

Ved utredning av hyperferritinemi er det i første rekke viktig å slå fast om det foreligger økte jernlagre eller at økt nivå av ferritin skyldes tilstander som ikke involverer jernstoffsiftet. P-Transferrinmetning er sentral tidlig i en utredning fordi et høyt nivå indikerer at det er økte jernlagre. Det er hevdet at jo høyere P-Transferrinmetning (>45%), jo større er risiko for økte jernlagre (13).

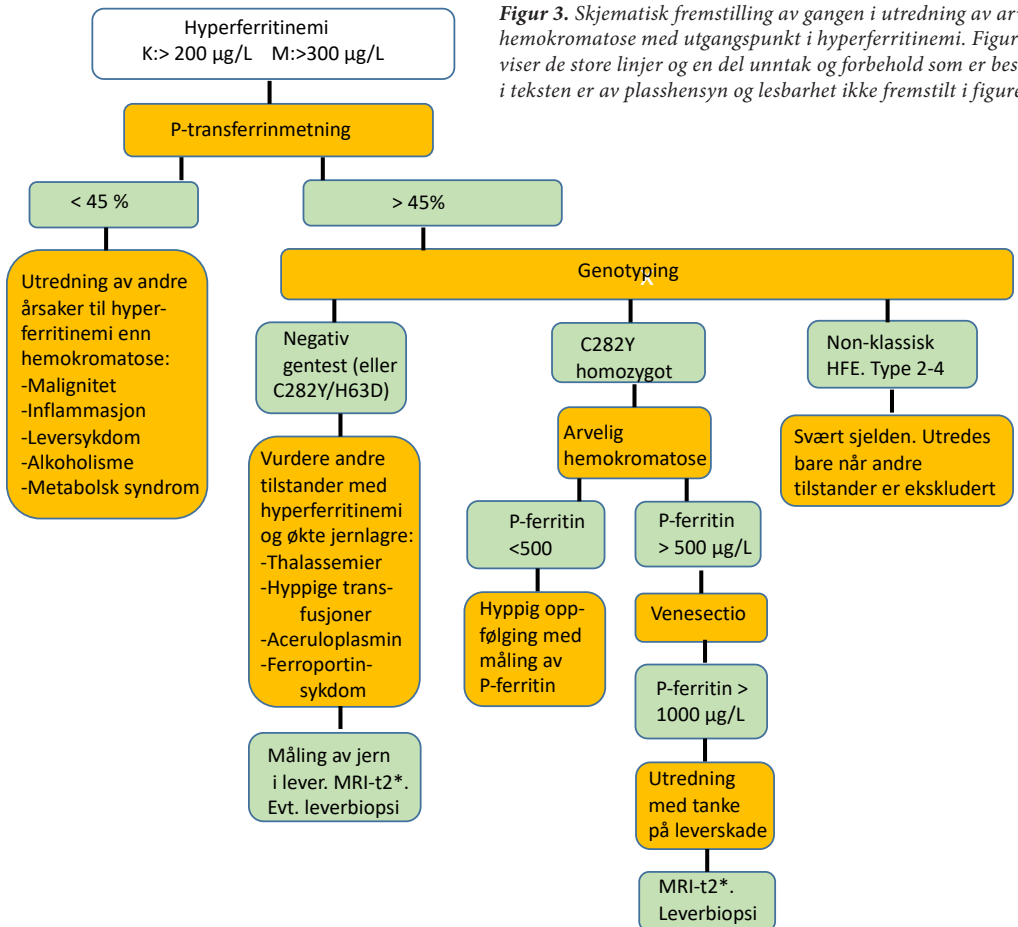
Hvis det i tillegg til hyperferritinemi og forøket P-Transferrinmetning finnes p.C282Y-mutasjonen, er diagnosen arvelig hemokromatose temmelig sikker. Hvis HFE-mutasjoner mangler og/eller jernparametrene er usikre eller i gråsonen, bør det vurderes å utføre måling av jerninnhold i lever med MR (T2*). Hvis det ikke påvises jernavleiring, må de hyppigste årsaker til hyperferritinemi (alkoholmisbruk, betennelsestilstander, malignitet, metabolsk syndrom) utredes. Hvis det er økt innhold av jern i levervev (og høy transferrinmetning), kan årsaken være arvelig HFE-hemokromatose, arvelig non-HFE-hemokromatose, høyt inntak av jern/transfusjoner og hemoglobinopati.

Oppsummering

En ukomplisert diagnose av arvelig HFE hemokromatose baserer seg på P-Ferritin, P-Transferrinmetning og mutasjonsanalyse for p.C282Y-mutasjonen. Ut over dette er det aktuelt med en bredere utredning av hyperferritinemi som vist i Figur 3.

Referanser

1. Kowdley KV, Brown KE, Ahm J, et al. ACG Clinical Guideline: Hereditary Hemochromatosis. *Am Gastroenterol* 2019;114:1202-8.
2. European Association for the study of the liver. EASL clinical practice guidelines for HFE hemochromatosis. *J Hepatol* 2010;53:3-22.
3. Thorstensen K, Kvitland MA, Irgens W, Hveem K, Asberg A. Screening for C282Y homozygosity in a Norwegian population (HUNT2): The sensitivity and specificity of transferrin saturation. *Scand J Clin Lab Invest*. 2010;79:92-7.
4. Hagve TA. Hepcidin som biomarkør for jernrelatert sykdom. *Klinisk Biokemi i Norden*. 2019; 33: 20-7.
5. Milman NT, Schioedt FV, Junker AE, et al. Diagnosis and Treatment of genetic-HFE-hemochromatosis. The Danish aspect. *Gastroenterol Res* 2019; 12: 221-32.
6. Knutsen H, Hammerstr m J. Handlingsprogram for hemokromatose, 2016. <https://www.legeforeningen.no/contentassets/032228f21383459987f-94f80615ea957/hemokromatose.handlingsprogram-2017.pdf>
7. Bacon BR, Adams C, Kowdley KV, et al. American Association for the study of liver. Diagnosis and management of hemochromatosis, 2011 Practice guideline by The American Association for the study of liver disease. *Hepatol* 2011;54:328-14.
8. Beaton MD, Adams PC. Transferrin saturation as a predictor of hepatic iron overload. *Liver Int* 2011;31:272-3.
9. Gurrin LC, Osborne NJ, Constantine CC, et al. The natural history of serum iron indices for HFE C282Y homozygosity associated with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 2008;135:1945-52.



Figur 3. Skjematisk fremstilling av gangen i utredning av arvelig hemokromatose med utgangspunkt i hyperferritinemi. Figuren viser de store linjer og en del unntak og forbehold som er beskrevet i teksten er av plasshensyn og lesbarhet ikke fremstilt i figuren.

10. Niederau C, Fisher R, Purschel A, et al. Long-term survival in patients with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 1996;110:1107-19.
11. Morrison ED, Brandhagen DJ, Phatak PD, et al. Serum ferritin level predicts advanced hepatic fibrosis among U.S. patients with phenotypic hemochromatosis. *Ann Intern Med* 2003;138:627-33.
12. Porto G, Brissot P, Swinkels DW, et al. EMON best practice guidelines for the molecular genetic diagnosis of hereditary hemochromatosis. *Eur J Human Genetics* 2016;24:479-5.

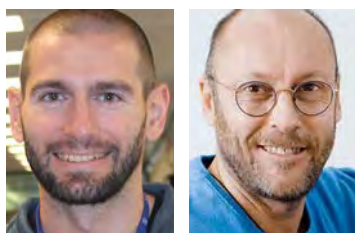
13. Cullis JO, Fitzsimons, Griffiths WJH et al. Investigation and management of raised serum ferritin. *Brit J Haematol* 2018;181:331-40.
14. Adams PC, Barton JC. The diagnostic approach to hyperferritinemia with a non-elevated transferrin saturation. *J Hepatol* 2011;24:453-18.
15. Lorcerie B, Audia S, Samson M, et al. Diagnosis of hyperferritinemia in routine clinical practice. *Presse Med* 2017;46: e379-e38.
16. Hearnshaw S, Thompson N-P, McGill A. The epidemiology of hyperferritinemia. *World J Gastroenterol* 2006;12:5866-9.

Automatiseret kvantificering af ADAMTS13 aktivitet ved mistanke om Trombotisk Trombocytopenisk Purpura

Konstantinos Dimopoulos, Jens P. Gøtze

Afdeling for Klinisk Biokemi, Rigshospitalet, Danmark

konstantinos.dimopulis@regionh.dk



Trombotisk Trombocytopenisk Purpura og ADAMTS13

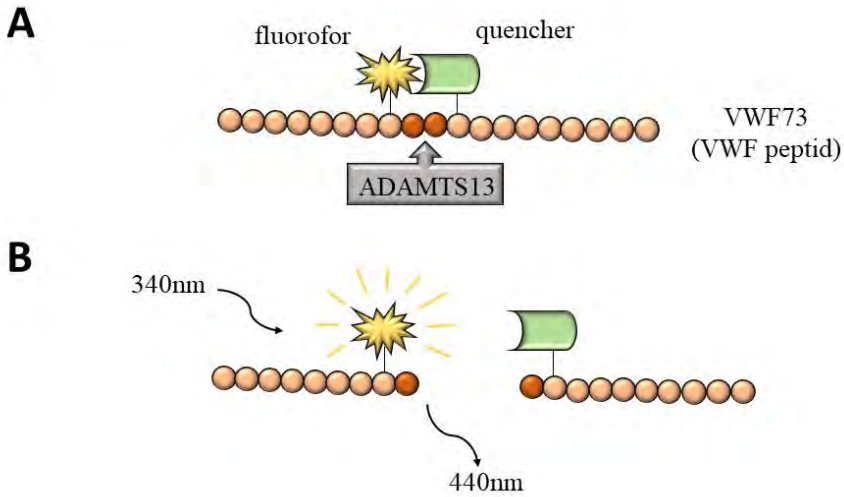
Trombotisk Trombocytopenisk Purpura (TTP) er en livstruende mikroangiopati, hvis biokemiske kendetegn er svært nedsat aktivitet af en specifik protease, ADAMTS13 (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type 1 repeats, member 13) (1). Den første rapporterede patient med TTP går helt tilbage til 1925, hvor Eli Moschowitz beskrev et usædvanligt (og fatalt) syndrom med feber, trombocytopeni, hæmolyse og generaliseret trombose hos en 16-årig pige (sygdommen kaldes nogle steder fortsat for morbus Moschowitz) (2). Patofysiologien ved TTP, som sygdommen efterhånden blev kendt som, forblev ukendt indtil 1982, hvor Moake et al. identificerede ualmindeligt store von Willebrand faktor (vWF) multimerer i plasma fra patienter med TTP (3). Derefter gik man på biokemisk "jagt" efter en von Willebrand-specifik protease, som, skulle det senere vise sig at være entydigt involveret i TTP. Identifikationen blev rapporteret i 1996, hvor den "von Willebrand-specifikke protease" blev isoleret af to uafhængige grupper (4,5), og i 2001 blev den endeligt identificeret som det trettende medlem af metalloprotease-familien ADAMTS (6). Denne opdagelse gav efterfølgende mulighed for laboratoriediagnostik af TTP igennem måling af ADAMTS13 aktivitet, som nu spiller en central rolle i den diagnostiske udredning af TTP. Et

aktivitetsniveau under 10% for ADAMTS13 (<0.10 kIU/L) betragtes i dag som diagnostisk for TTP (7).

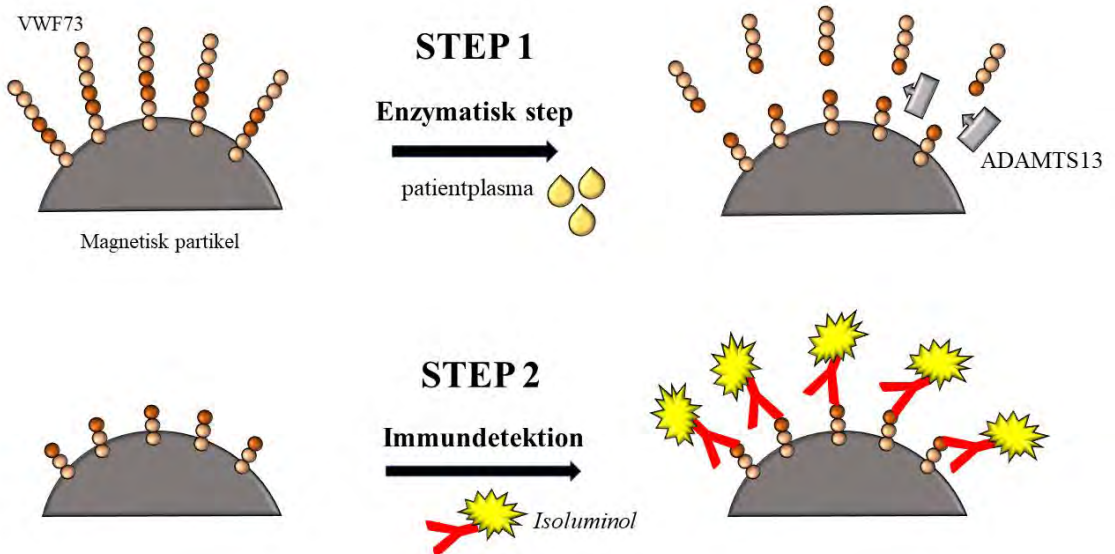
Uden behandling har TTP en høj mortalitet – omkring 90%, mens behandling med plasmaferese reducerer mortaliteten til omkring 10% (8). Derfor er rettidig diagnosticering og behandlingsopstart afgørende for overlevelsen hos patienter med TTP, men de indtil dato anvendte metoder til måling af ADAMTS13 aktivitet har været ikke-automatiserede og meget tidskrævende. Derfor initieres behandlingen ofte alene på mistanken om TTP, mens man afventer måleresultatet af ADAMTS13 aktivitet (9). Der har derfor længe været et udtalt behov for en hurtigere og lettere tilgængelig metode, som kan anvendes alene ved mistanke om TTP.

Måling af ADAMTS13 aktivitet

De første såkaldte "first generation assays", som blev brugt til måling af den VWF-specifikke proteolytiske aktivitet af ADAMTS13, blev primært anvendt i forskningsøjemed og nåede aldrig at blive implementeret som rutineanalyser på grund af deres høje kompleksitet og lave reproducerbarhed. Den først anvendte metode var baseret på kvantificering af "ultra-large" VWF former med western blotting, hvilket var tidskrævende og samtidig præget af lav præcision og nøjagtighed (6). Problemet ved disse førstegenerations assays var desuden, at man arbejdede med full-length VWF, som er et komplekst protein og dermed vanskeliggør såvel håndteringen i assayet som robustheden af resultaterne. Gennembruddet kom i starten af 00'erne med rapportering af et kortere, syntetisk ADAMTS13-specifikt VWF fragment (VWF73), hvilket banede vejen til udviklingen af hurtigere og mere pålidelige metoder, kendt som "second generation assays" (10). En af disse metoder, *fluorescence resonance energy transfer* (FRET), til-



Figur 1. Princippet af FRET assay, som benytter et kortere von-Willebrand faktor fragment, oftest VWF73. Et fluorofoer og en quencher er placeret på VWF73, i hver ende af det ADAMTS13-specifikke kløvningssted af VWF73 (markeret i mørkere farve). Efter inkubation med patientplasma (A) bliver peptidet kløvet af ADAMTS13, hvilket resulterer i fjernelsen af quencheren fra fluorofoer (B), som nu kan eksiteres (på 340nm) og udgive fluorescens, typisk målt på 440nm. Dette fluorescerende signal vil være proportionalt til ADAMTS13 aktivitet.



Figur 2. Princippet af det nye, fuldt automatiserede HemosIL Accustar ADAMTS13 assay. Plasmaprøven bliver først loadet i en prækonstrueret kassette, hvor den blandes med VWF73-coatede magnetiske partikler. Efter magnetisk separation og vask tilføjes der isoluminol-mærkede antistoffer mod ADAMTS13 kløvningsstedet på VWF73. Kemiluminescens er derefter målt som relative light units (RLUs) af BioFlash optical system og transformeret til en værdi af ADAMTS13 aktivitet ved brug af kalibrationskurven.

Fortsættes på side 24

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**

lader direkte kinetisk evaluering af metalloprotease-aktivitet (11) og har siden dens udvikling været referencemetode for laboratiemæssig diagnosticering af TTP (12).

Princippet af FRET assay'et til ADAMTS13 aktivitet er enkelt: der er placeret en fluorofor og en quencher på VWF73, på i sin side af ADAMTS13-kløvningsstedet (12). Når VWF73 kløves af ADAMTS13 vil fluoroforen separeres fra sin quencher, og derfor vil der udvikles fluorescens efter excitering på en specifik bølgelængde. Dette signal kan derefter korreleres til enzymaktiviteten af ADAMTS13 (Figur 1). På trods af dens popularitet er FRET en tidskrævende analyse, som kræver en del manuelt arbejde, og den er derfor ikke egnet til en så akut sygdom som TTP. Ikke desto mindre er FRET fortsat referencemetoden til analyse af ADAMTS13 aktivitet på mistanke om TTP i mange laboratorier.

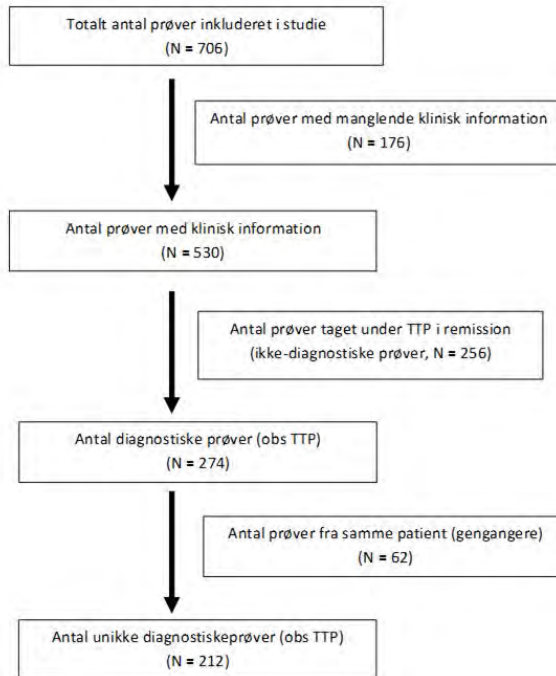
HemosIL AcuStar (Instrumentation Laboratory, Werfen Company, Bedford, Massachusetts, United States) er en ny og fuldt automatiseret metode til måling af ADAMTS13 aktivitet med en analysetid på 33 minutter. Det er et to-trins immunoassay, hvor prøven initialt inkuberes med magnetiske partikler,

som er fuldt dækkede med VWF73, efterfulgt af opmærkning med isoluminol-konjugerede antistoffer mod det ADAMTS13-specifikke kløvningssted på VWF73(13). Kemiluminescens bliver således kun produceret, hvis ADAMTS13 har kløvet VWF73 på de magnetiske partikler, og det producerede lyssignal er proportionalt med den enzymatiske aktivitet af ADAMTS13 (Figur 2).

FRET versus HemosIL: Er vi klar til et skift?

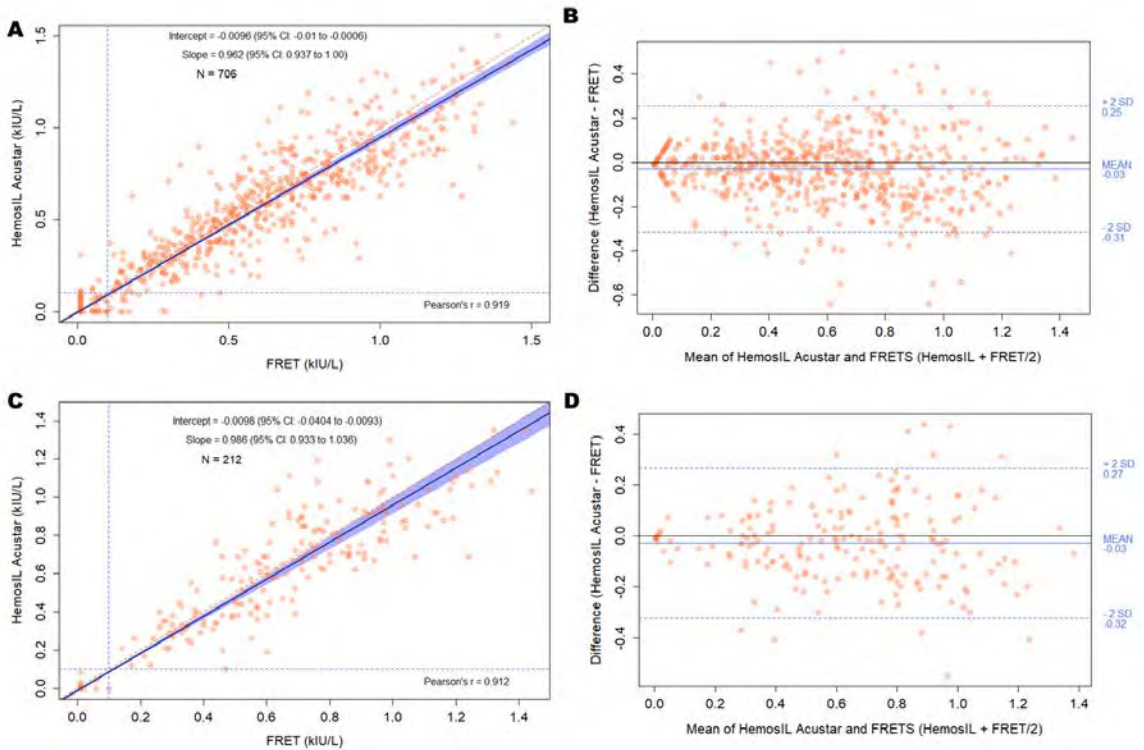
Det nye HemosIL assay har allerede været direkte sammenlignet med både en ELISA-baseret metode (TECHNOZYM), som benyttes af nogle laboratorier (14–18), men også med referencemetoden FRET (14,19). Vores laboratorie var det første i Skandinavien til at implementere HemosIL metoden og udførte i den sammenhæng en sammenligning med vores tidligere anvendte metode, FRET. Vi benyttede et ikke-selekeret materiale af 706 plasmaprøver fra i alt 362 patienter indsamlet over en periode på 14 år (fra 2006 til 2020) (20). For 137 patienter (med i alt 176 prøver) manglede der klinisk information, da de var indlagt i andre regioner med forskellige journalsystemer. En oversigt over alle de prøver, som blev inkluderet i vores studie, kan ses i Figur 3.





Figur 3. Oversigt over alle de 706 prøver inkluderet i vores studie.





Figur 4. Metodesammenligning af HemosIL og FRET assays i måling af ADAMTS13 aktivitet. Passing-Bablok regression af HemosIL- og FRET-målinger på A) alle 706 plasmaprøver og C) de 212 diagnostiske prøver. Den prikkede linje svarer til kontrol-linjen af et "perfect fit" og den blå linje viser regressionslinjen med 95% konfidensintervaller. Det venstre panel viser Bland Altman plots med B) alle 706 prøver og D) de 212 diagnostiske prøver. Den sorte linje svarer til null bias (kontrollinje). Den blå, kontinuerlige linje viser den gennemsnitlige bias (difference-linje) og de blå, prikkede linjer viser 95% limits of agreement. Figuren er modificeret fra (20).

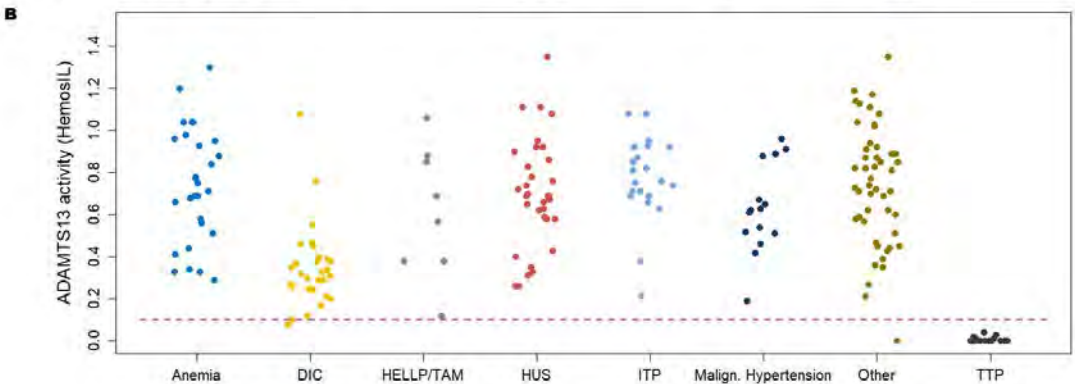
Ved sammenligning af alle 706 prøver fandt vi en stærk korrelation mellem HemosIL og FRET ($r=0.919$, 95%CI: 0.907 til 0.930, $P<0.001$). Desuden var begge metoder sammenlignelige med et Passing-Bablok regressions-intercept på -0.0096 (95%CI: -0.01 til -0.0006) og en slope på 0.962 (95%CI: 0.937 til 1.00, Figur 4A). Bland-Altman analyse viste ikke tegn til systematisk bias mod lave eller høje værdier af ADAMTS13 aktivitet med en ganske konstant bias på -0.03 kIU/L (95%CI: -0.04 til -0.02, $P < 0.001$) (Figur 4B). Da hurtig måling af ADAMTS13 aktivitet er centralt i den diagnostiske udredning af TTP, udførte vi metodesammenligningen igen ved kun at inkludere de 212 diagnostiske prøver. Vi fandt igen en meget høj korrelation ($r=0.913$, 95% CI: 0.887 til 0.932, $P<0.001$) og stor overensstemmelse mellem de to assays (Figur 4C, 4D).

Klinisk validering af FRET og HemosIL

Selvom flere studier nu har undersøgt overensstemmelsen mellem HemosIL og andre eksisterende metoder til måling af ADAMTS13 aktivitet, foreligger der knap så meget data i forhold til HemosIL's diagnostiske nøjagtighed sammenlignet med de andre metoder. Da vi kun inkluderede de 212 diagnostiske prøver, fandt vi en høj sensitivitet og specificitet (henholdsvis på 100% og 98.7%) for HemosIL (Figur 5A) med en Cohens kappa værdi på 0.980. Tilsvarende høje værdier af især specificitet og positiv prædiktiv værdi af HemosIL har også været rapporteret af andre (14,19). Niveaue af ADAMTS13 aktivitet varierede meget i vores kohorte, men ingen patienter med TTP havde en ADAMTS13 aktivitet over 0.10 kIU/L med HemosIL, mens to patienter (en med dissemineret intravaskulær koagulation og en med systemisk

A

	FRET		HemosIL	
	< 0.10 kIU/L	≥ 0.10 kIU/L	< 0.10 kIU/L	≥ 0.10 kIU/L
TTP	27	1	28	0
No TTP	2	182	2	182
<i>Sensitivitet</i>	96.4%		100%	
<i>Specificitet</i>	98.9%		98.9%	
<i>Positiv prædiktiv værdi</i>	93.2%		93.3%	
<i>Negativ prædiktiv værdi</i>	99.4%		100%	



Figur 5. A: Diagnostisk nøjagtighed i form af sensitivitet, specificitet, positiv og negativ prædiktiv værdi for både FRET og HemosIL for de 212 diagnostiske prøver. **B:** Visuel distribution af ADAMTS13 aktivitet (målt med HemosIL) på de forskellige diagnoser (DIC: dissemineret intravaskulær koagulation; HELLP-syndrom: hemolytic anemia, elevated liver enzymes, low platelets syndrom; TAM: transplantations-associeret mikroangiopati; HUS: hæmolytisk uremisk syndrom; ITP: idiopatisk/immunbetinget trombocytopenisk purpura; TTP: trombotisk trombocytopenisk purpura). Figuren er modificeret fra (20).

lupus) havde et niveau under 0.10 kIU/L (Figur 5B). Den største diskrepans mellem de to metoder var primært hos patienter i klinisk remission af TTP. Der var i alt 20 af disse prøver: For 13 af dem var ADAMTS13 aktiviteten under 0.10 kIU/L med HemosIL men ikke med FRET, og de resterende syv havde ADAMTS13 aktivitet under 0.10 kIU/L med FRET men ikke med HemosIL. Dette fænomen blev også rapporteret i et nyligt studie, hvor referencemetoden var den ELISA-baserede TECHNOZYME (21). Vi har ingen umiddelbar forklaring på denne observation, men det kan ikke udelukkes at plasmaferese eller immundæmpende behandlinger potentielt interfererer anderledes med disse to metoder, som måler ADAMTS13 aktivitet; fluorescens (FRET) versus kemiluminescens (HemosIL). Dette fund bekræfter desuden, at ingen af disse metoder kan anvendes alene

til at evaluere sygdomsaktivitet hos patienter med TTP i deres remissionsfase, og at det er den kliniske præsentation kombineret med hæmolyse-aktivitet, som fortsat er de bedste markører til at monitorere sygdommen og en eventuelt begyndende sygdomsaktivitet.

Konklusion

Vores erfaring er, at HemosIL – den nye, automatiserede metode til kvantificering af ADAMTS13 aktivitet ved mistanke om TTP – er sammenlignelig med den tidligere referencemetode FRET. Vores laboratorium har derfor implementeret HemosIL som rutineanalyse, hvilket tillader en hurtig evaluering af mulig TTP, således at den rigtige behandling kan påbegyndes så tidligt som muligt – og patienter uden TTP kan gå videre med yderligere diagnostisk udredning.

Referanser

1. Ijoly BS, Coppo P, Veyradier A. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2017;129:2836–46.
2. Moschowitz E. An acute febrile pleiochromic anemia with hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries; an undescribed disease. *Am J Med* 1952;13:567–9.
3. Moake JL, Rudy CK, Troll JH, et al. Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1982;307:1432–5.
4. Tsai HM. Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. *Blood* 1996;87:4235–44.
5. Furlan M, Robles R, L mmlle B. Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. *Blood* 1996;87:4223–34.
6. Fujikawa K, Suzuki H, McMullen B, et al. Purification of human von Willebrand factor-cleaving protease and its identification as a new member of the metalloproteinase family. *Blood* 2001;98:1662–6.
7. Blanchi V, Robles R, Alberio L, et al. Von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) in thrombocytopenic disorders: A severely deficient activity is specific for thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2002;100:710–3.
8. Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, et al. Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med* 1991;325:393–7.
9. Connell NT, Cheves T, Sweeney JD. Effect of ADAMTS13 activity turnaround time on plasma utilization for suspected thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion* 2016;56:354–9.
10. Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y, et al. VWF73, a region from D1596 to R1668 of von Willebrand factor, provides a minimal substrate for ADAMTS-13. *Blood* 2004;103:607–12.
11. Fields GB. Using fluorogenic peptide substrates to assay matrix metalloproteinases. *Methods Mol Biol* 2001;151:495–518.
12. Kokame K, Nobe Y, Kokubo Y, et al. FRET-S-VWF73, a first fluorogenic substrate for ADAMTS13 assay. *Br J Haematol* 2005;129:93–100.
13. Maribel Mirabet, Silvia Blanch, Josep Puig JS. Highly sensitive and fully automated chemiluminescent immunoassay for rapid quantification of ADAMTS13 activity. XXVI Congr Int Soc Thromb Haemost 63rd Annu Sci Stand Comm Meet 2017; PB 703. Available from: https://www.postersessiononline.eu/173580348_eu/congressos/ISTH2017/aula/-PB_703_ISTH2017.pdf
14. Valsecchi C, Mirabet M, Mancini I, et al. Evaluation of a New, Rapid, Fully Automated Assay for the Measurement of ADAMTS13 Activity. *Thromb Haemost* 2019;119:1767–72.
15. Favresse J, Lardinois B, Chatelain B, et al. Evaluation of the Fully Automated HemosIL Acustar ADAMTS13 Activity Assay. *Thromb Haemost* 2018;118:942–4.
16. Stratmann J, Ward JN, Miesbach W. Evaluation of a rapid turn-over, fully-automated ADAMTS13 activity assay: a method comparison study. *J Thromb Thrombolysis* 2020;3–6.
17. Pascual C, Nieto JM, Fidalgo T, et al. Multicentric evaluation of the new HemosIL Acustar chemiluminescence ADAMTS13 activity assay. *Int J Lab Hematol* 2020;(September):1–9.
18. Favalaro EJ, Mohammed S, Chapman K, et al. A multicentre laboratory assessment of a new automated chemiluminescent assay for ADAMTS13 activity. *J Thromb Haemost* 2020;0–2.
19. Beranger N, Benghezal S, Joly BS, et al. Diagnosis and follow-up of thrombotic thrombocytopenic purpura with an automated chemiluminescent ADAMTS13 activity immunoassay. *Res Pract Thromb Haemost* 2021;5:81–93.
20. Dimopoulos K, Philips M, Goetze JP. Diagnosis of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura by ADAMTS13 Activity Quantification. *J Appl Lab Med* 2022;92:207–17.
21. Favalaro EJ, Mohammed S, Chapman K, et al. A multicenter laboratory assessment of a new automated chemiluminescent assay for ADAMTS13 activity. *J Thromb Haemost* 2021;19:417–28.



Foto: Henrik Alfthan

Bondböna (*Vicia faba*) och akut hemolys: en egenartad koincidens

Gunnar Ronquist – Klinisk kemi och farmakologi, Akademiska sjukhuset, Uppsala
gunnar.ronquist@akademiska.se



Humana röda blodkroppar har en begränsad livstid i vår cirkulation och lever under påtagligt energisnåla förhållanden. Blodkropparna kan sakna mer eller mindre olika enzym i energimetabolismen, vilket i regel leder till icke-

sfärocytär hemolys med oftast utan kraftfullt förkortad erythrocyt-överlevnadstid i cirkulationen. Denna artikel handlar om akut hemolys efter intag av bondböna, *Vicia faba*, hos patienter med brist på enzymet glukos 6-fosfat dehydrogenas. Sådan enzymbrist förekommer framför allt i befolkningar i subtropiska och tropiska länder medan den varit praktiskt taget helt frånvarande i skandinavisk och övrig nordeuropeisk befolkning. De senaste årtiondenas folkförflyttningar till de skandinaviska länderna har medfört att sådan G6PD-brist blivit en realitet även hos oss.

Röda blodkroppars energimetabolism

Humana röda blodkroppar (RBC) har en extrem energimetabolism på grund av att RBC i sitt utmognade tillstånd saknar mitokondrier och andra intracellulära organeller. De är i stället fullpackade med hemoglobin (Hb), som är förmedlare av syrgas och koldioxid mellan lungorna och kroppens olika vävnader. De två huvudsakliga nedbrytningsvägarna för energisubstratet glukos i RBC är den anaeroba, stegvisa oxidationen (91% av glukostillförseln) till laktat samt nedbrytning via den så kallade pentosfosfatshunten (9% av glukostillförseln). De två första reaktionerna i denna shunt är oxidationssteg, som kräver närvaro av koenzymet NADP, som i varsin redox-reaktion producerar varsitt reducerat koenzym, NADPH. Det andra steget i shunten är en oxidativ dekarboxylering, som (förutom produktion av det

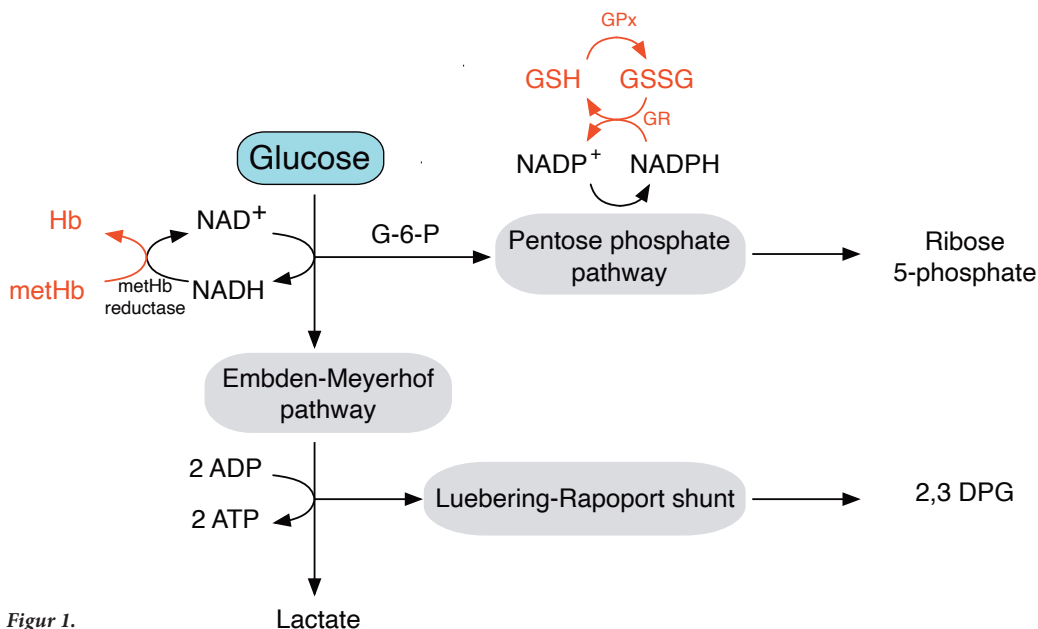
reducerade koenzymet) också innefattar bildning av koldioxid och ett pentossocker. Det första reaktionssteget i pentosfosfatshunten katalyseras av enzymet glukos 6-fosfat dehydrogenas (G6PD).

Huvudmetaboliterna ATP och DPG

Det teoretiska utbytet av glukosoxidationen i RBC är 2 adenosin trifosfat (ATP) per glukos men detta nettoutbyte uppnås aldrig, därför att i det första energigivande steget, som är en oxidativ fosforyleringsreaktion på triosfosfatnivå, kommer en del av 1,3 bisfosfoglycerat (där fosfat i 1-ställning är högenergetiskt bundet) att undergå en exergon fosfomutasreaktion för bildning av 2,3 bisfosfoglycerat ("difosfoglycerat", DPG) (figur 1). Denna senare metabolit är viktig för syrgasdissociationen från Hb ute i vävnaderna, vilken högerförskjuts. RBC existerar under påtagligt energisnåla förhållanden för bland annat upprätthållande av sin säregna bikonkava form med ständiga formförändringar vid passagen i kroppens minsta kärl, kapillärerna. Av detta framgår, att RBC har snäva toleransramar för biokemiska avvikelser av vilket slag det vara må.

Kort intermolekylärt avstånd mellan Hb-molekylerna i RBC

Som nämnts innehåller RBC tätt packade Hb-molekyler, som riskerar att mer eller mindre precipitera vid ändrade biokemiska/biofysikaliska förhållanden intracellulärt. Ett klassiskt exempel på detta är sickelcell-Hb (HbS), där den sjätte aminosyran i hemoglobinetns bäge betakedjor utsatts för en punktmutation. Glutamat, som är en "sur" aminosyra (med en extra negativ laddning) har bytts mot valin, som är en neutral aminosyra (utan extra laddning) och HbS blir således ett mindre anodalt protein än HbA, det normala Hb, vid Hb-elektrofores. Den ljusmikroskopiska bilden vid HbS blir typisk med så kallade sickelceller. Man tror att HbS-mutationen skulle kunna ge en överlevnadsfördel mot malaria, vars plasmodium har en passage i RBC.



Figur 1.

GSH har en vågmästarroll i redox-balansen i RBC

Redan i början av 1950-talet hade forskare vid universitetet i Chicago observerat, att antimarialmedlet klorokin (i våra dagar aktualiserat som möjligt motmedel mot Covid19-virus, SARS-CoV-2) hade en hemolytisk effekt hos vissa individer. Man kunde tidigt fastställa, att effekten var hänförlig till brist på en ”intrinsic factor” i RBC, som visade sig vara reducerat glutathion (GSH). Glutathion är en tripeptid innehållande aminosyrorna glutamat, cystein och glycin och är en viktig vågmästare i den intracellulära redox-balansen i RBC. I RBC verkar också peroxidase-enzymet för att eliminera oxiderande peroxider av bland annat Hb och denna peroxidase-redox-reaktion kräver närvaro av GSH för att fungera och detta GSH blir då oxiderat till dimert glutathion (GSSG). Detta GSSG måste i sin tur åter-reduceras till 2 GSH för att ge framförallt Hb kontinuerligt skydd mot peroxider. Denna åter-reducering av GSSG sker med hjälp av enzymet glutathion reductas, som i sin tur har ett absolut krav på närvaro av reducerat koenzym, NADPH för sin funktion (figur 1). Här kommer de tidigare beskrivna bägge NADPH väl till pass, som viktiga spelare (som bildades i pentosfosfatshunten).

G6PD-bristen är ett praktexempel på genetisk polymorfism

Glukos 6-fosfat dehydrogenas, som således är startenzymet för pentosfosfatshunten och garanten för återreduktion av GSSG till 2 GSH i RBC, visade sig kunna uppträda i bristfällig mängd hos vissa individer. I själva verket är G6PD-bristen en av de allra vanligaste genetiska defekterna i världen. Man beräknar att c:a 400 miljoner människor i främst subtropiska och tropiska områden bär på rubbningen. Befolkningar i Medelhavsländerna, Mellanöstern, östra Indien och sydöstra Asien inklusive Filippinerna är drabbade liksom den svarta befolkningen i Afrika. Däremot var G6PD-bristen ytterligt sällsynt i Skandinavien och övriga Nordeuropa samt i Japan. Även här överensstämmer utbredningen av G6PD-bristen med den geografiska utbredningen för malaria, varför många sett, i analogi med HbS-mutationen, G6PD-bristen som en överlevnadsfördel gentemot malaria. G6PD-bristen visade sig vara ett praktexempel på genetisk polymorfism med flera hundra olika mutationer på aminosyranivå. Av det följer att vi har att göra med ett stort antal G6PD-varianter med olika uttryck. Det kan exempelvis röra sig om nedsatt enzymsyntes eller nedsatt enzymaktivitet på grund av olika

varianter av instabilitet i enzymproteinet. Ibland ses olika kombinationer av kvantitativa och kvalitativa avvikelser. Förekomsten av kvalitativa avvikelser hos enzymet lär oss att det kan vara en fördel att mäta den katalytiska aktiviteten snarare än den molekylära massan av enzymet vid misstanke om G6PD-brist. Översiktligt kan man göra en skillnad vad beträffar bristen och dess uttryck mellan å ena sidan Medelhavsvarianten med sin utbredning över Mellanöstern och vidare österut och de svarta i Afrika, USA och Brasilien å andra sidan. Generellt kan sägas att den allvarliga typen av G6PD-brist (enzymaktivitet < 10% av normal RBC-aktivitet) framför allt uppvisas av Medelhavsvarianten i kontrast till den mera modesta typen som företrädesvis observerats bland de svarta i USA. Tidigt visade forskare, i först USA och sedan i Italien, att G6PD-bristen var könsbunden och knuten till X-kromosomen. Det innebär att kvinnor drabbas i mindre omfattning än män och kvinnor med heterozygot brist på enzymet får inga symptom.

NADPH-bristen får genomslag i framför allt RBC

Bristen på reducerat koenzym (NADPH) på grund av G6PD-brist blir inte särskilt märkbar i kroppens övriga celler, eftersom de kan tillgodose sina behov av NADPH via alternativa metaboliska vägar, något som inte är möjligt för RBC med sin åtstramade energimetabolism enligt tidigare resonemang. I RBC kommer oxiderat GSH att reagera inte bara med sig själv (bildande GSSG) utan också genom bildande av så kall-

ade ”blandade disulfider” med andra proteiner. Ett uttryck för detta är bildningen av Heinz-kroppar, som kan visualiseras i ljusmikroskopet efter vitalfärgning av blodutstryket. De består av denaturerat Hb, som sitter på erythrocytmembranets insida. Det innebär en ökad stelhet i membranet och bidrar till hemolysen vid G6PD-brist, som är av icke-sfärocytär typ (liksom vid de flesta övriga enzymbristerna i RBC). Den formförändring av erythrocyter som kan ses vid G6PD-brist innebär bildning av s.k. ”hemi-ghosts”, d.v.s. halvvägs framställda blodskuggor (ghosts), som ses efter komplett hemolys av RBC. Kronisk hemolys vid G6PD-brist är mycket sällsynt. I stället är den mer eller mindre akut och inträffar ofta i samverkan med ett yttre utlösande agens. Som redan nämnts kan ett sådant yttre agens vara intag av antimalariamedlet klorokin och det är ett exempel på en oxidant med sådan effekt.

Favism

Så kan också vara fallet med det begrepp som benämns ”favism”. Det är det akuta hemolytiska tillstånd, som utlöses efter intag av favabönor (bondbönor), *Vicia faba* (Figur 2). Detta akuta tillstånd tycks vara begränsat till patienter med Medelhavstypen av G6PD-bristen. I enlighet med tidigare resonemang ses en ökad frekvens av män jämfört med kvinnor och man har också funnit en ökad incidens hos barn av manligt kön i åldersintervallet 2-6 år. Favism uppträder främst hos dem med G6PD-brist, som intagit färska bondbönor i någon tillagningsform men kan





Foto: Henrik Alfthan

även inträffa efter att ha ätit någon maträtt innehållande torkade bönor. Notabelt är att favism kan utlösas hos det bröststoppfödda barnet, där modern dess-förinnan intagit just bondbönor utan att själv ha uppvisat några symptom. Likaså har det beskrivits att pollen från fält med växande bondbönor kunnat framkalla akut hemolys hos män med G6PD-brist. Den hemolytiska krisen vid favism kan ibland vara dramatisk med kraftigt sjunkande Hb och behov av blodtransfusion (se fall-rapport nedan). Det skall likväl hållas i minnet, att långt ifrån alla med konstaterad G6PD-brist drabbas av akut hemolys efter intag av bondbönor. Här kan flera faktorer spela en roll, såsom varierande grad av tarmabsorption av den hemolytiska effektorn, liksom tillkommande oxidativa stress-agens, som exempelvis pågående inflammatorisk reaktion och intag av läkemedel av annat slag än klorokin som vissa sulfonamider, nitrofurantoin. Hepatit och diabetisk acidosis är kända sjukdomstillstånd som pådrivande faktorer vid G6PD-brist.

De senaste årens invandring till Sverige och de övriga nordiska länderna har inneburit att G6PD-brist bland våra patienter har nu blivit en realitet, som måste övervägas och tas i beaktande vid varje inträffat fall av akut, icke-sfärocytär hemolys, där annan uppenbar bakomliggande orsak kunnat uteslutas.

Här följer ett typfall för flera år sedan från Barnmottagningen, Akademiska sjukhuset:

- Pojke, 3 års ålder.
- Föräldrar: Från Irak respektive Iran (ingen släktskap).
- Aktuellt: Sedan 2-3 dagar gulaktig hudkostym, trötthet, lätt feber och buksmärter.
- Lab-analyser: B-Hb 52-58 g/L; MCV 93 fL; MCH 31 pg; retikulocyter 6,7%; blodbild: inga sfärocyter, ordinär differentialräkning, lätt leukocytos. S-bilirubin 40-26 $\mu\text{mol/L}$; S-LD 14,8 $\mu\text{kat/L}$; S-ALAT 0,33 $\mu\text{kat/L}$. Erc-G6PD 10-15% av aktiviteten hos normala RBC.
- Åtgärd: Pojken fick 130 mL erythrocyter med glatt efterförlopp och information till föräldrarna. Pojken hade ätit bondbönor innan insjuknandet.
- Anamnes via tolk.

Litteratur

Ronquist G, Theodorsson E. Inherited, non-spherocytic haemolysis due to deficiency of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Scand J Clin Lab Invest* 2007;67:105-111.

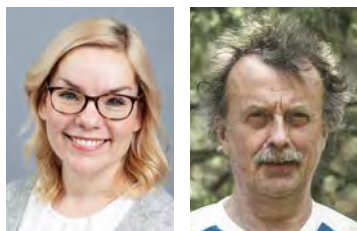
Mulibrey nanism – ett belysande exempel på hur det finländska sjukdomsarvet erbjuder möjligheter till klinisk och biokemisk forskning

Susann Karlberg^{1,2} Henrik Alfthan³

¹ Nya Barnsjukhuset, Helsingfors Universitet samt Helsingfors Universitetssjukhus, Finland

² Folkhälsans forskningscentrum, Helsingfors, Finland

³ HUS Diagnostikcentrum, HUSLAB, Helsingfors, Finland



Bakgrund

Mulibrey nanism (MUL) är en autosomt recessiv sjukdom som karakteriseras av tillväxtstörning och multipla organfynd. Namnet är en akronym och kommer från *MU*sle, *Liver*, *BR*ain och *EY*e – enligt de organ man först upptäckte att påverkades av sjukdomen. Sjukdomen beskrevs första gången på 1970-talet på Barnkliniken i Helsingfors (1) och hör till det så kallade finländska sjukdomsarvet. Det finländska sjukdomsarvet består av 36 sällsynta, monogena sjukdomar som är överrepresenterade i Finland som en följd av vår bosättningshistoria, vilken resulterade i uppkomsten av geografiska isolat (2). Detta ledde gradvis till en förlust av den genetiska variationen på grund av giftermål inom isolaten och uppkomsten av en så kallad grundareffekt. Med grundareffekten (engl. *Founder effect*) menas det fenomen som uppkommer när ett nytt område befolkas av ett mindre antal individer från en större population. Detta leder till en minskad genetisk mångfald och ökad förekomst av särskilt autosomt recessiva sjukdomar i den nya populationen. MUL patienternas förfäder kan med hjälp av kyrkböcker och släktforskning ledas tillbaka ända till tidigt 1600-tal och Pielinensjöns stränder i Savolax i östra Finland. Den första kliniskt diagnostiserade MUL patienten fick sin diagnos som 18-åring år 1972. Till dags dato känner vi till cirka 110 finländska och 30

utländska diagnostiserade patienter med MUL. Varje år föds i genomsnitt två barn med MUL i Finland och incidensen är ungefär 1/37 000 (3). Under flera decennier koncentrerades vården och uppföljningen av MUL patienterna till Barnkliniken i Helsingfors, vilket ledde till bred klinisk erfarenhet och unika kliniska data av denna patientgrupp som grund för vidare forskning.

Genetik och diagnos

Den sjukdomsframkallande *TRIM37* genen identifierades år 2000, vilket möjliggjorde genetisk bekräftning av den kliniska diagnosen. De finländska patienterna bildar genetiskt sett en mycket homogen grupp, emedan alla patienter bär på samma grundarmutation (Fin-major, c.493-2A>G), de flesta i en homozygot form. MUL förorsakas av mutationer i *TRIM37*-genen vilka leder till uppkomsten av ett icke-funktionellt protein (4). Den patofysiologiska bakgrunden till MUL är tillsvidare ännu okänd. *TRIM37*-proteinet har lokaliserats till peroxisomerna och har tillskrivits flera funktioner (5). Proteinet besitter E3-ubikvitinligasaktivitet och har nyligen påvisats vara viktigt för regleringen av antalet centrioler i cellen och på så sätt påverka genomstabiliteten (6,7). Grunden för diagnosen ligger i de kliniska fynden och det är skäl att ha MUL i åtanke hos spädbarn födda små för gestationsåldern (SGA, engl. *Small for Gestational Age*), som uppvisar progressiv tillväxtstörning och dålig viktutveckling. De viktigaste differentialdiagnoserna utgörs av Silver-Russel syndromet och 3M-syndromet. Diagnostiska kriterier för klinisk diagnos har etablerats (9). Molekylärgenetisk sällning för de två vanligaste *TRIM37*-mutationerna finns att få i Finland, men för icke-finländska patienter krävs sekvensering av hela genen, eftersom patienterna i dessa fall sannolikt bär på enskilda mutationer. Till dags dato känner man till cirka 30 sjukdomsframkal-

lande mutationer i *TRIM37* genen (<https://databases.lovd.nl/shared/genes/TRIM37>). *TRIM37* täcks oftast väl av exomsekvensering och riktade NGS- (engl. *Next Generation Sequencing*) paneler.

Kliniska fynd

Tillväxstörningen börjar prenatalt och barnen föds SGA. Medellängden för nyfödda flickor är 44.8 cm och pojkar 45.0 cm (9). Längdutvecklingen förblir bristfällig och den pubertala tillväxtpurten är obetydlig. Administration av tillväxthormon har en god effekt på den prepubertala längdtillväxten, men endast ringa effekt på vuxenlängden (ca +5 cm). Vuxenlängden är 130-150 cm (10). Utmaningar med ätandet, respiratoriska infektioner och lunginflammationer är vanliga problem under spädbarnsåldern (9). Den psykomotoriska utvecklingen är mestadels normal. Till sjukdomen hör karakteristiska dysmorfiska drag; ansiktet är triangelformat, pannan bred och hög, och skallen långsmal. Kroppsbyggnaden är gracil, extremiteterna tunna, bröstkorgen liten och axlarna smala. Ytterligare vanliga fynd hos patienterna är en tunn röst, *nevus flammei* på kroppen samt fibrös dysplasi i skelettet (9). Det allvarligaste symptomet är en restriktiv perimyokardiell hjärtsjukdom, och redan ca 20% av barnpatienterna har klinisk hjärtinsufficiens vid en ålder av 5 år. Hjärtsjukdomen bestämmer i hög grad patienternas prognos (11).

MUL är ett intressant föremål för forskning emedan en defekt i en enda gen ger upphov till en sjukdomsbild som innefattar flera centrala medicinska problem, såsom cancer, metaboliskt syndrom samt infertilitet. MUL-patienterna uppvisar ofta flera tumörer och har en ökad risk för cancer samt en störd organogenes (12,13). Nästan 80% av patienterna uppvisar olika tumörer och i flera vävnader förekommer strukturella avvikelser och blodkärlsanomalier som ett tecken på en allmän störning i morfogenesen. Tumörerna förekommer speciellt i de endokrina körtlarna samt i levern och njurarna. Av de kvinnliga patienterna utvecklar 55% stromacellstumörer i ovarierna, så kallade fibrothecom (13). Wilms tumör är den vanligaste elakartade tumören i denna patientgrupp (12).

Majoriteten av vuxna MUL-patienter utvecklar metaboliskt syndrom (14). Över 90 % av vuxna uppvisar insulinresistens vilket leder till typ 2 diabetes hos hälften av patienterna. Även hepatomegali och fettlever är vanliga fynd (14).

Hypogonadism, det vill säga bristfällig funktion av könskörtlarna, och tillhörande infertilitet är ett av de centrala dragen vid MUL. Vår forskningsgrupp har påvisat att alla MUL-patienter antingen är infertila eller gravt subfertila (15-17). De manliga patienterna utvecklar en testikelhärstammande hypogonadism och spermatogenesis stannar av så gott som helt i slutet av puberteten (16). MUL-flickornas gonadotropiner är normala och de inleder puberteten spontant. Även menstruationen börjar spontant. Däremot förblir den yttre könsutvecklingen bristfällig. De första tecknen på ovariell insufficiens infaller i medeltal 1.1 år efter menarche, och medelåldern för utvecklingen av prematur ovariell insufficiens (POI) är 22.4 år (17). Till dags dato har ingen kvinnlig MUL patient blivit spontant gravid.

I vår studie beträffande utvecklingen av hypogonadismen hos flickor och kvinnor med MUL, granskade vi även nivåerna av serum Anti-Müllerskt Hormon (AMH) hos patienterna. AMH är ett dimert glykoprotein som hör till TGF- β tillväxtfaktorfamiljen (för översikt, se Färkkilä och Anttonen, *Klinisk Biokemi i Norden* 1/2012, 18). Tidigare var AMH mest känd för sin roll i den sexuella differentieringen, men uppmärksammas idag som en viktig biomarkör för ovariell funktion. Hos flickor och kvinnor uttrycks AMH i granulosa-cellerna i små, växande folliklar (äggblåsor). Under fostertiden och postnalt är AMH-nivåerna så gott som omätbara, men under puberteten stiger nivåerna betydligt. Efter 25 års ålder börjar AMH-koncentrationerna gradvis avta för att bli omätbara när menopausen närmar sig. Det har dock visat sig att det förekommer stora individuella skillnader i AMH-nivåer mellan kvinnor (19). Under de senaste åren har AMH visat sig vara en användbar markör för den funktionella äggcellsreserven, vilken utgörs av de växande folliklarna i äggstocken, emedan AMH korrelerar starkt med antalet växande folliklar (19). Huruvida AMH-nivån kan förutspå ålder vid menopaus anses dock ännu kontroversiellt (19). AMH hålls relativt stabilt under menstruationscykelns skeden vilket ger den en betydande fördel i jämförelse med traditionella markörer för äggcellsreserven såsom follikelstimulerande hormon (FSH) samt Inhibin-B. Utvecklingen av ultrakänsliga standardiserade ELISA-metoder för mätningen av serumnivån av AMH har ökat den kliniska tillämpningen av AMH-bestämningar. Ännu saknas dock standardiserade internationella gränsvärden för AMH vilket försvårar jämförelsen mellan olika ana-

lyser (19). I Turners syndrom förutspår AMH-nivån väl pågående ovariefunktion eller ovarieell insufficiens (20). I vårt arbete kunde vi påvisa att även i MUL utgör AMH-nivån en tidig och viktig indikator för utvecklingen av ovarieell insufficiens och svinnet av äggceller (17). AMH-nivåerna var förenliga med ovariernas morfologiska fynd i ultraljud. Ytterligare var AMH-nivåerna omätbara eller mycket låga redan postnatalet och hos de små flickorna, vilket innebär att majoriteten av äggcellerna med största sannolikhet förstörs redan under fostertiden. Hos de 19 pubertala eller postpubertala MUL patienter som deltog i vår studie, var AMH-nivån omätbar hos 17/19 (89%) av patienterna (Bild 1).

Behandling

Tidig diagnostisering och behandling av möjliga ätproblem och respiratoriska infektioner är av central betydelse under barndomen. Regelbunden uppföljning av tillväxt, pubertetsutveckling samt hjärtfunktion utgör grundpelarna i uppföljningen

av denna patientgrupp. Ultraljud av buken är indicerat på grund av den förhöjda risken för tumörer. Från och med ung vuxen ålder bör man följa med glukosmetabolismen och kvinnliga patienter behöver regelbunden gynekologisk uppföljning.

Prognos och framtidsutsikter

Medellivslängden hos MUL patienter är i genomsnitt förkortad men en normal livslängd är inte utesluten. Svårighetsgraden på patienternas organfynd varierar stort men graden av hjärtpåverkan är den viktigaste enskilda prognostiska faktorn. Sällsynta sjukdomar kan utgöra viktiga fönster mot biologiska processer och translationell forskning. MUL erbjuder som en monogen sjukdom en unik modell för klinisk och cellbiologisk undersökning av många centrala medicinska problem, såsom infertilitet och metaboliskt syndrom. Främst strävar dock vår forskning efter att sammanfatta internationella vårdrekommendationer samt förbättra diagnostiken, vården och livskvaliteten för denna patientgrupp.

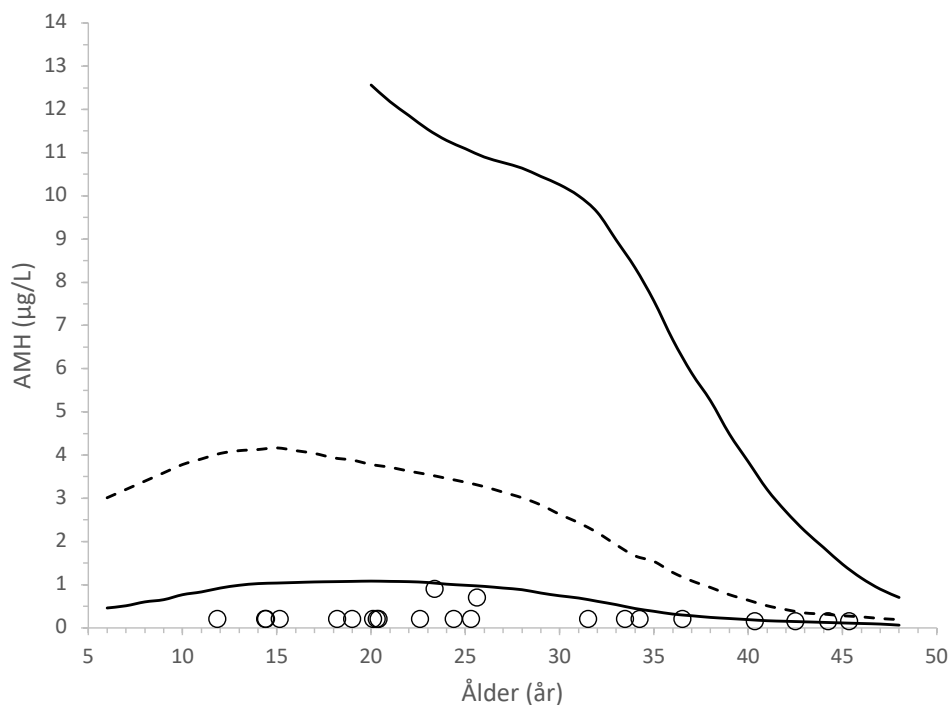


Bild 1. Serumkoncentrationen av AMH hos äldre flickor och kvinnor med MUL, ritad som en funktion av åldern. Övre och undre gränser för normalvärde (10 samt 90 percentilerna) indikerade med enhetliga linjer; medianen indikerad med streckad linje. Normala referensvärden har anpassats från Lie Fong et al., 2012 (21). Bilden modifierad från referens 17.

Referenser

1. Perheentupa J, Autio S, Leisti S, et al. Mulibrey nanism, an autosomal recessive syndrome with pericardial constriction. *Lancet* 1973;2:351-5.
2. Norio R. Finnish Disease Heritage I: characteristics, causes, background. *Hum Genet* 2003;112:441-56.
3. Lipsanen-Nyman M. Mulibrey nanismi. Doktorsavhandling, Helsingfors Universitet, Helsingfors, Finland 1986.
4. Avela K, Lipsanen-Nyman M, Idänheimo N, et al. Gene encoding a new RING-Bbox-Coiled-coil protein is mutated in Mulibrey nanism. *Nat Genet* 2000;25:298-301.
5. Kallijärvi J, Avela K, Lipsanen-Nyman M, et al. The TRIM37 gene encodes a peroxisomal RING-B-box-coiled-coil protein: classification of mulibrey nanism as a new peroxisomal disorder. *Am J Hum Genet* 2002;70:1215-1228.
6. Kallijärvi J, Lahtinen U, Hämäläinen R, et al. TRIM37 defective in mulibrey nanism is a novel RING finger ubiquitin E3 ligase. *Exp Cell Res* 2005;308:146-155.
7. Balestra FR, Strnad P, Fluckiger I, et al. Discovering regulators of centriole biogenesis through siRNA-based functional genomics in human cells. *Dev Cell* 2013;25:555-571.
8. Karlberg N, Jalanko H, Perheentupa J, et al. Mulibrey nanism: Clinical features and diagnostic criteria. *J Med Genet* 2004;41:92-98.
9. Karlberg N, Jalanko H, Lipsanen-Nyman M. Growth and growth hormone therapy in subjects with Mulibrey nanism. *Pediatrics* 2007;120:e102-11.
10. Lipsanen-Nyman M, Perheentupa J, Rapola J, et al. Mulibrey heart disease: Clinical manifestations, long term course and results of pericardiectomy in a series of 49 patients born before 1985. *Circulation* 2003;107:2810-2815.
11. Karlberg N, Karlberg S, Karikoski R, et al. High frequency of tumours in Mulibrey nanism. *J Pathol* 2009;218:163-71.
12. Karlberg S, Lipsanen-Nyman M, Lassus H, Kallijärvi J, Lehesjoki AE, Bützow R. Gynecological tumors in Mulibrey nanism and role for RING finger protein TRIM37 in the pathogenesis of ovarian fibrothecomas. *Mod Pathol* 2009;22:570-8.
13. Karlberg N, Jalanko H, Kallijärvi J, et al. Insulin resistance syndrome in subjects with mutated RING finger protein TRIM37. *Diabetes* 2005, 54:3577-3581.
14. Karlberg S, Tiitinen A, Lipsanen-Nyman M. Failure of Sexual Maturation in Mulibrey Nanism. *N Engl J Med* 2004;351(24):2559-2560.
15. Karlberg S, Toppari J, Karlberg N, et al. Testicular failure and male infertility in the monogenic Mulibrey nanism disorder. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:3399-3407.
16. Karlberg S, Tiitinen A, Alftan H, et al. Premature ovarian insufficiency and early depletion of the ovarian reserve in the monogenic Mulibrey nanism disorder. *Hum Reprod* 2018;33:1254-1261.
17. Färkkilä A, Anttonen M. Klinisk användning av serum Anti-Müllerskt Hormon (AMH): Från reproduktion till granulosa celltumörer. *Klinisk Biokemi i Norden*. 2012;24:50-54.
18. Moolhuijsen LME, Visser JA. Anti-Müllerian Hormone and Ovarian Reserve: Update on Assessing Ovarian Function. *J Clin Endocrinol Metab* 2020;105:3361-3373.
19. Hagen CP, Aksglaede L, Sørensen K, et al. Serum levels of anti-Müllerian hormone as a marker of ovarian function in 926 healthy females from birth to adulthood and in 172 Turner syndrome patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:5003-5010.
20. Lie Fong S, Visser JA, Welt CK, et al. Serum anti-müllerian hormone levels in healthy females: a nomogram ranging from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:4650-4655.

Theranos – ett diagnostikabolags uppgång och fall

Anders Larsson – anders.larsson@akademiska.se



Den 3 januari 2022 dömdes den tidigare VD:n och grundaren för Theranos. Hon befanns skyldig till fyra anklagelser om att ha lurat investerare. I ytterligare 3 fall så kunde domstolen inte enas om ett beslut. Dessa 3 fall gällde också anklagelser om att ha lurat investerare. Däremot så frikändes hon

från de fyra anklagelserna om att ha lurat patienter med undermåliga tester!

Holmes riskerar upp till 20 års fängelse samt böter på 250 000 \$ plus skadestånd för vardera av de fyra anklagelserna om att ha lurat investerare. Det känns lite oproportionerligt att kunna få 80 års fängelse för att man lurat investerare men inget straff för att man lurat patienter och haft en dålig diagnostik. Budskapet är väl att vi kan ha hur dåliga tester som helst utan att det gör något, men lura inte era investerare! Hur går detta egentligen ihop med t.ex. den amerikanska versionen av IVD direktivet?

Bakgrunden till den här domen var att Elizabeth Holmes efter ett års kemiteknik studier presenterade ett koncept kring analyser av patientprover där en droppe blod skulle kunna användas för 100-tals analyser. Holmes patenterade detta och startade sedan Theranos 2004. Hon lyckades få över 50 miljoner i investeringar och i bolagets styrelse satt bland annat USA:s tidigare utrikesminister Henry Kissinger och högt uppsatta militärer och politiker som George Shultz och Jim Mattis. Man kan ju undra vad dessa personer kunde om diagnostik?

Bolaget utvecklade ett instrument som skulle kunna analysera 70 olika analyter i en droppe kapillärblod. 2014 var Theranos värt närmare 100 miljarder kronor och hade 700 anställda. Från början satte man ut instrument på apotek och livsmedelskedjan Safeway och Walgreens men efter ett tag (tekniska problem) så samlade man analysinstrumenten på Theranos och sade att man utförde analyserna där. I verkligheten så fungerade inte teknologin utan man använde Siemens instrument för analyserna. Problemet var att man bara tog en bloddroppe vilket gjorde att man fick späda proverna för att få tillräckligt stora provvolymen och fick då så låga analysvärden att mätosäkerheten blev väldigt hög. I och med att analyserna utfördes in house kunde man gå runt de amerikanska motsvarigheterna till IVD direktivet. Det var ju egenutvecklade metoder!

2016 presenterade Holmes instrumentet på American Association for Clinical Chemistry kongressen (<https://www.kqed.org/futureofyou/215268/full-video-replay-elizabeth-holmes-presentation-at-aacc>), men i princip så innehöll presentationen ingen information om prestanda och metodik.

2015 började medicinreportern John Carreyrou undersöka bolaget och deras analyser. Han kunde visa att det var en bluff. Apparaterna som visas upp för investerare fungerar i själva verket inte alls. Instrument från andra företag användes istället och analyser med Theranos instrument var i själva verket förinspelade med fingerade analysresultat. 2018 reagerade de amerikanska myndigheterna och bedömde att uppfinningen hotade patientsäkerheten. Verksamheten stängdes ned och Theranos förlorade sitt värde.

Theranos verksamhet upphörde praktiskt 2018. Det tog sedan ytterligare 3 år innan Holmes dömdes. Vi kan väl räkna med att domen kommer överklagas.

Man blir ju förvånad att detta kunde pågå så länge utan att bluffen avslöjades. FDA och lagstiftningen kring diagnostik verkar ha varit tämligen tandlös och frågan är om det finns mer bett inom EU och IVD direktivet? Med den här historien så kan vi nog förvänta oss en strängare IVD lagstiftning för egenutvecklade metoder. Frågan är dock om detta kommer förhindra framtida ”Theranos affärer”. Personligen blir jag beklämd över domarna som i princip ger ett fribrev för att lura patienter, men ger ett hårt straff om man lurar investerare. Att ha så dålig diagnostik att man tar död på patienter är OK, men nåde dig om du lurar en investerare. När sådana här grova övertramp kan passera FDA:s inspektioner, så säger det också att vi på laboratorierna verkligen måste kontrollera att de metoder som vi tar i drift håller en adekvat kvalitet. Det räcker inte att förlita sig på IVD och liknande stämplarna.

Historien om Theranos har beskrivits i John Carreyrous bok ”BAD BLOOD: Secrets and Lies in a Silicon Valley Startup”. Boken har tidigare recenserats i KBN (1).

Referenser

1. Jens Rehfeld. Theranos - ”Kejsarindens Nye Klæder”. Indlæg om sagen og bogen (Bad blood). KBN 2018; 4:42-6.

Summary of an evaluation organised by SKUP

Dår Kristian Kur, on behalf of Scandinavian evaluation of laboratory equipment for point of care testing (SKUP)
daar.kur@deks.dk



Afinion 2 Analyzer, for measurement of HbA1c

Background

The Afinion 2 test system (figure 1) is an in vitro diagnostic device for quantitative measurement of Haemoglobin A1c (HbA1c), C-reactive protein (CRP), albumin/creatinine ratio (ACR) and Lipid Panel. The product is intended for professional use. The system is produced by Abbott Diagnostics Technologies AS and was launched into the Scandinavian market in 2017.



Figure 1. Afinion 2 Analyzer

The sample material is fresh capillary blood. The measuring interval for HbA1c on the Afinion 2 Analyzer is 20 – 140 mmol/mol. The SKUP evaluation was carried out May to June 2021 at the request of Abbott Rapid Diagnostics GmbH in Germany.

The aim of the evaluation

The aim of the evaluation was to assess the analytical quality and user-friendliness of the Afinion 2 Analyzer, both when used under optimal conditions

by experienced laboratory personnel and by intended users in primary health care, which documents the analytical quality of the system under real-life conditions.

Materials and methods

Fresh capillary whole blood samples from 100 patients in a hospital laboratory and 97 patients in two primary health care centres (PHCCs) were measured for HbA1c on the Afinion 2 Analyzer. Three different lot numbers of test cassettes were used. Venous whole blood samples from the same patients were analysed on a comparison method (Tosoh Automated Glycohemoglobin Analyzer HLC-723 G11, Tosoh Bioscience, Inc.).

The analytical results and user-friendliness were assessed according to pre-set quality goals. The quality goal for precision was a repeatability (coefficient of variation, CV) $\leq 3,0$ % and for accuracy that ≥ 95 % of the results should be within $\pm 3,0$ mmol/mol of the results from the comparison method at HbA1c concentrations $< 35,3$ mmol/mol and within $\pm 8,5$ % at HbA1c concentrations $\geq 35,3$ mmol/mol. The user-friendliness was assessed using a questionnaire covering several topics with three given ratings; satisfactory, intermediate and unsatisfactory, and with the quality goal of a total rating of “satisfactory”.

Results

The CV achieved under optimal conditions varied between 1,2 and 1,8 % depending on the concentration level. The PHCCs achieved a CV between 1,2 and 1,7 % (table 1). The results from the two PHCCs were merged before the calculation of CV, since the variances between the two PHCCs was not significantly different (F-test, 5 % significance level). Under optimal conditions, the bias between the Afinion 2 Analyzer and the comparison method was 0,70 and 2,00 mmol/mol at the middle (39-59 mmol/mol) and

highest (>59 mmol/mol) intervals, respectively. There were no significant biases shown at the PHCCs.

Under optimal conditions, 95 % of the results (95 out of 100) were within the allowable deviation limits

(figure 2) and when handled by intended users, 97 % of the results (87 out of 90) were within the limits for accuracy (figure 3). The user-friendliness was rated as satisfactory.

Table 1. Repeatability (CV) of the Afinion 2 Analyzer for HbA1c measured in capillary blood samples. Results achieved under optimal conditions (Hospital laboratory) and by intended users (PHCCs).

Place	HbA1c interval, mmol/mol	n*	Excluded results (statistical outliers)	Mean value HbA1c, mmol/mol	CV (90 % CI), %
Hospital laboratory	<39	25	0	34,1	1,8 (1,5 – 2,4)
	39 – 59	42	0	50,2	1,7 (1,4 – 2,1)
	>59	32	0	75,3	1,2 (1,0 – 1,5)
PHCC1 + PHCC2	<39	23	0	38,6	1,5 (1,2 – 2,0)
	39 – 59	45	0	49,3	1,7 (1,4 – 2,1)
	>59	26	0	76,1	1,2 (1,0 – 1,6)

*An account of the number of samples is given in the report.

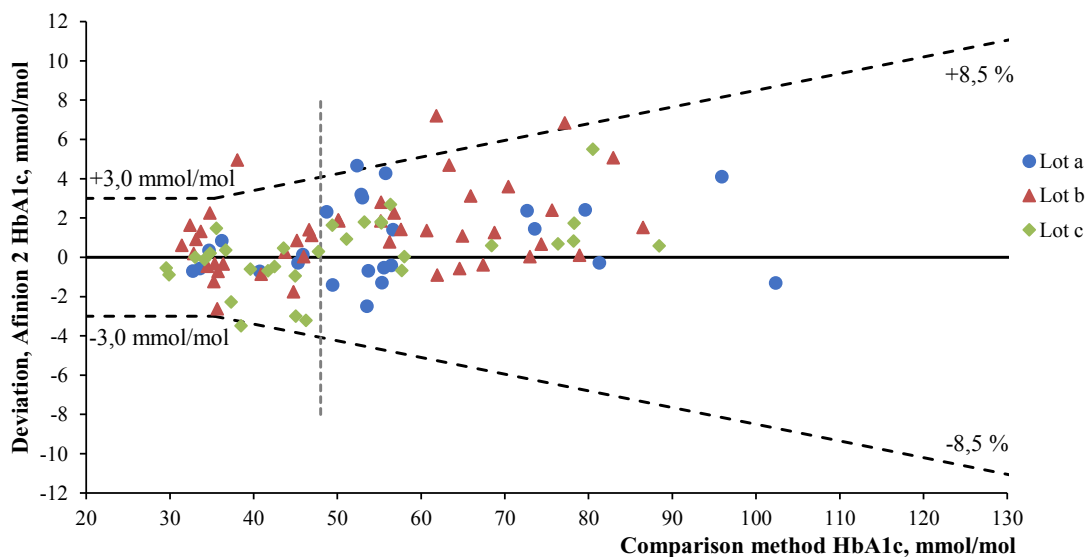


Figure 2. Accuracy of HbA1c results on the Afinion 2 Analyzer under optimal conditions. The x-axis represents the mean HbA1c result of the comparison method. The y-axis represents the HbA1c deviation in mmol/mol of the first capillary measurement on the Afinion 2 Analyzer from the mean result of the corresponding sample of the comparison method. The different lots of test cartridges are illustrated with the symbols ● (Lot a), ▲ (Lot b) and ◆ (Lot c). Stippled lines represent the allowable deviation limits of the quality goal (within $\pm 3,0$ mmol/mol of the results of the comparison method for HbA1c concentrations <35,3 mmol/mol and within $\pm 8,5$ % for HbA1c concentrations $\geq 35,3$ mmol/mol). The vertical stippled line at 48 mmol/mol HbA1c illustrates the diagnostic threshold value for diabetes. Number of results totally (n) = 100. Number of results included in the calculation of accuracy (n) = 100. An account of the number of samples is given in the report.

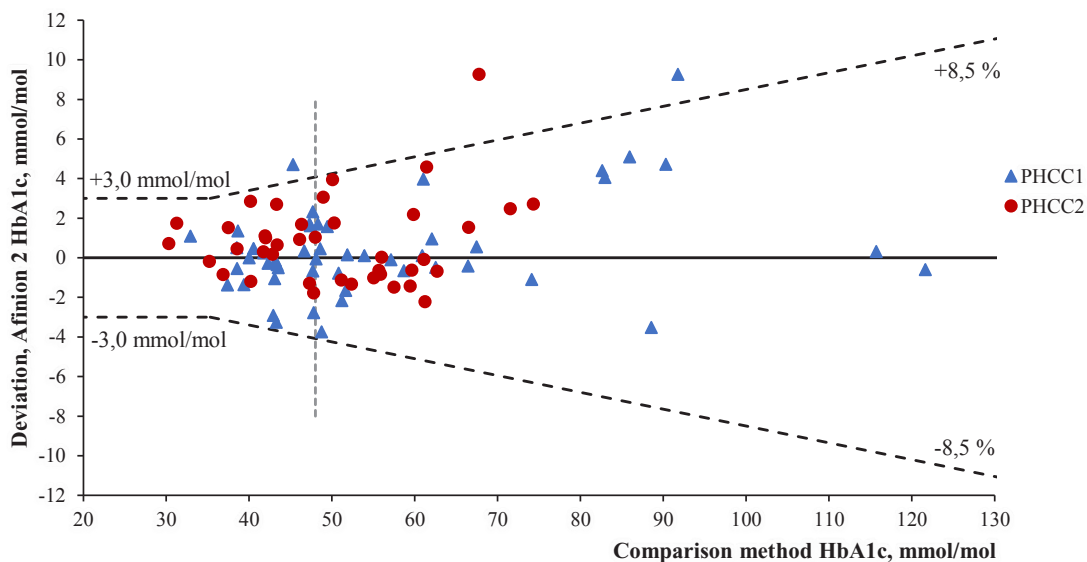


Figure 3. Accuracy of HbA1c results on the Afinion 2 Analyzer achieved by intended users. The x-axis represents the mean HbA1c result of the comparison method. The y-axis represents the HbA1c deviation in mmol/mol of the first capillary measurement on the Afinion 2 Analyzer from the mean result of the corresponding sample of the comparison method. The vertical line at 48 mmol/mol HbA1c illustrates the diagnostic threshold value for diabetes. The different PHCCs are illustrated with the symbols ● (PHCC1) and ▲ (PHCC2). Stippled lines represent the allowable deviation limits of the quality goal (within $\pm 3,0$ mmol/mol of the results of the comparison method for HbA1c concentrations $< 35,3$ mmol/mol and within $\pm 8,5$ % for HbA1c concentrations $\geq 35,3$ mmol/mol). Number of results totally (n) = 97. Number of results included in the calculation of accuracy (n) = 90. An account of the number of samples is given in the report.

Conclusion

The quality goal for the evaluation was fulfilled for both repeatability and accuracy under optimal conditions as well as by intended users. The quality goal for user-friendliness was also fulfilled.

The complete evaluation report is available at www.skup.org



Til manuskriptforfattere

Utfyllende forfatterinstruksjoner finnes på hjemmesiden, <http://www.nfkk.org/klinisk-biokemi-i-norden/instruksjoner>. Litteraturhenvisninger (maksimalt 20) nummereres i den rekkefølge de angis i manuskriptteksten og skrives i Vancouverstil, men med bare de tre første forfatterne. Dersom artikkelen har mer enn tre forfattere listes de tre første etterfulgt av "et al". Forfatterens etternavn skrives først, deretter initialer (for og mellomnavn), forfatterne skilles ved komma og punktum settes etter siste forfatters initialer evt. etter "et al". Punktum brukes også etter tittel på artikkelen. Journalnavn forkortes som angitt i Pubmed, liste over forkortelser finnes i LinkOut Journals. Etter journalforkortelsen følger et mellomrom, årstall for publikasjonen, et semikolon, volum nummer, et kolon og sidetall. Overflødige sidetall fjernes, som vist i eksempelet 1989;49:483-8. Personlige meddelelser (inkludert fullt navn og årstall) og produkt informasjon skal ikke stå i referanselisten men refereres i manuskriptteksten. 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:

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

Journal artikkel med mer enn tre forfattere:

2. 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:

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

Bok kapitler:

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

PhD teser:

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

On-line publisert artikkel som ennå ikke er trykt:

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

Supplement:

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

Internett kilde:

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

Det nåværende styret består av: Mads Nybo (Odense), Nikki Have Michell (København), Anna Linko-Parvinen (Turku), Eeva-Riitta Savolainen (Oulu), Ólöf Sigurdardóttir (Akureyri), Leifur Franzson (Reykjavík), Yngve Thomas Bliksrud (Oslo), Per Bjellerup (Västerås), Mads Ohlson (Göteborg), Bess Margrethe Frøyshov (Larvik). **Formann i NFKK:** Henrik L. Jørgensen (København).

Redaktionen för Klinisk Biokemi i Norden

Hovedredaktør: Helle Borgstrøm Hager · Tryk: Clausen Grafisk



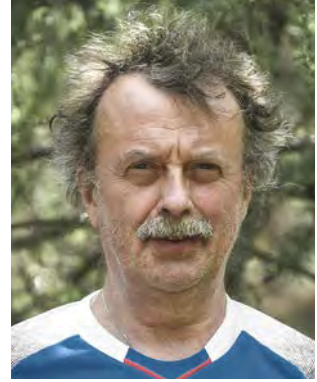
Danmark

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



Island

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



Finland

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



Norge

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
Avelningen 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

A vital leap forward in cardiac testing

Speed meets accuracy
where it matters most -
the wait is over for hs-cTnI
at the point of care.



When ruling out a potential myocardial infarction (MI), every minute spent waiting on test results comes at a cost. Patients and their families are anxious, and clinicians and laboratory professionals are pressured to identify the problem quickly and accurately. Increased time to results adds congestion to an already busy emergency department. But what if ED staff had access to high-sensitivity troponin right at the point of care?

Consider the value of adding a new tool at the clinician's disposal that can provide high-sensitivity troponin I (hs-cTnI) results in just 8 minutes from a single fingerstick and patient interaction.

The solution is intuitive, easily integrates into the existing workflow, and gives laboratory partners centralized control over decentralized testing, so ED throughput can be improved for efficiency and confidence.

The Atellica® VTLi Patient-side Immunoassay Analyzer, powered by Magnotech® Technology, will transform your chest pain assessment process to benefit patients, clinicians, and your operational workflow. Because when it comes to assessing patients with symptoms of an MI in the ED, trust, time, and resources aren't just valuable—they're vital.

[siemens-healthineers.com/cardiac](https://www.siemens-healthineers.com/cardiac)

SIEMENS
Healthineers