

Klinisk Biokemi i Norden





With our EliA™ autoimmunity assays, we are the leading supplier in this field

Autoimmune disorders are rare and difficult to diagnose. We have developed more than 50 clinically relevant tests which have been produced to improve diagnostics and make better informed treatment decisions.

EliA™ Autoimmunity Test



Connective tissue disorders



Inflammatory bowel disease



Rheumatoid arthritis



Pernicious anaemia



Vasculitis and Goodpasture syndrome



Metabolic disorders



Antiphospholipid syndrome



Autoimmune liver diseases



Coeliac disease



Immune deficiencies

Read more about our EliA autoimmunity assays here



Find out more at thermofisher.com/phadia

thermoscientific

INDHOLD

Leder: Laboratoriedektiven	4
<i>Helle B. Hager</i>	
Ordförandespalten	7
<i>Per Bjellerup</i>	
Abstracts for XXXIX Nordic Congress in Clinical Chemistry	8
<i>Frida Duell, Andries Blokzijl</i>	
Helsingprisen 2023 tildeles Nils Bolstad for artikkelen <i>Immunoassay interference</i>	10
<i>Helle B. Hager</i>	
The NFKK Young Researcher Award	12
<i>Per Bjellerup, Lars Melholt Rasmussen</i>	
The Nordic preanalytical scientific working group	13
<i>Mads Nybo</i>	
Tell us your best preanalytical story and win a free entrance to the NFKK Nordic congress in Stockholm!	14
<i>Jonna Pelanti</i>	
Development of surfactant for treatment of premature infants with immature lungs	15
<i>Tore Curstedt</i>	
Historien om Yngre Læger i Klinisk Biokemi i Danmark	20
<i>Nikki Have Mitchell</i>	
Tekniker för att hantera prover där man misstänker förekomst av störande antikroppar	24
<i>Anders Larsson, Henrik Alfthan</i>	
Reflextestning – En metod för att minska ”onödig” testning	30
<i>Anders Larsson, Helle B. Hager</i>	
Summary of an evaluation organised by SKUP, cobas pulse	35
Var förvarar jag faeceshinken under Nobelmiddagen?	38
<i>Anders Larsson</i>	

Forsiden: *Tore Curstedt med en ampulle Curosurf. Les hans artikkel i dette nummer av KBN om utviklingen av syntetisk surfactant (Curosurf) som har spart millioner av liv.*

Leder:

Laboratoriedektiven

Helle B. Hager



En gang for lenge siden drømte jeg om å bli krimforfatter. På barneskolen ble moren min innkalt til en bekymringssamtale etter at jeg hadde skrevet en stil som blant annet involverte et avkappet hode i en søppelkasse i bakgården der jeg bodde. Da jeg ble litt eldre sendte jeg en gang inn en kriminalnovelle til et ukeblad. Den ble selvfølgelig refusert - og det ble med drømmen om å bli krimforfatter. Nå nøyer jeg meg med å spare på gode «kriminalhistorier» på laboratoriet. Med det mener jeg f.eks. interessante og lærerike pasienthistorier med uvanlige laboratorieprøver der man må lete etter «den skyldige».

Jakten på den skyldige

Gjennom reflektiv testing og rådgivning kan vi på laboratoriet bidra til å løse gåter som *hvem er den skyldige eller hva er diagnosen? Hvilken tilstand/sykdomsprosess kan forklare slike blodprøver? Eller hvorfor døde pasienten (1)*? Vi på laboratoriet kan bidra med viktige puslebrickler for å få klinikerne til å se hele bildet, til å finne diagnosen eller den skyldige, om du vil. Vi kan også bidra med råd om videre blodprøveutredning hos pasienter med uforklarlige analyseresultater. For eksempel fikk jeg en henvendelse fra en barnelege om en barn med uforklarlig forhøyet vitamin B12 i tillegg til pancytopeni med lett nedsatte leukocytter, trombocytter og hemoglobin, samt splenomegali. Jeg foreslo blant annet å bestille et blodutstryk og å måle aktivt vitamin B12 (holotranscobalamin) i tillegg til ny analyse av total-B12 etter PEG-felling. Aktivt vitamin B12 ble målt til en normal verdi, mens vitamin B12 ble målt til ca. 8000 pmol/L etter PEG-felling. Blodutstryk viste ingen umodne celler, men én kjerneholdig erytrocytt og lett polykromasi og ingen økning av sfærocytter eller andre formavvik, og normal laktat dehydrogenase og bilirubin. Jeg hadde lest artikkelen til Arendt og Nexø om forslag til diagnostisk strategi ved uventet høy vitamin B12 (2), som blant annet omtaler autoimmun

lymfoproliferativt syndrom (ALPS) som en årsak til høy vitamin B12. Jeg nevnte for barnelegen at en mulig årsak til svært forhøyet vitamin B12 og autoimmune cytopenier hos barn kan være ALPS, der høy B12-konsentrasjon skyldes haptokorrinproduksjon fra lymfocytter. En tid senere fikk jeg tilbakemelding fra barnelegen om at videre utredning ved Oslo universitetssykehus hadde konkludert med at diagnosen ALPS var sannsynlig.

Andre ganger kan sykdommen forårsake falske lave eller høye analysesvar. For eksempel bidro falskt meget høye vitamin D-analysesvar hos oss for noen år siden til at vi stilte diagnosen myelomatose hos et par pasienter (3). M-komponenter kan medføre preanalytisk eller analytisk interferens gjennom en rekke mekanismer, men kan være vanskelig å oppdage. Andre ganger kan vi sette klinikere på sporet av et mulig makroenzym og sette i gang de nødvendige undersøkelser. Her er vi ofte avhengig å bli kontaktet av en rekvirent som stiller spørsmål ved riktigheten av analyseresultatet, men noen ganger er det vi på laboratoriet som først stiller spørsmålet, f.eks. gjennom medisinsk validering av laboratorieresultater.

De fleste laboratoriefeil skjer i den preanalytiske fase, men de fleste klinikere kan svært lite om preanalytiske feil. Her har vi på laboratoriet en viktig oppgave, både ved opplæring av personell som tar og håndterer blodprøver (for å unngå preanalytiske feil) og gjennom å etablere prosedyrer som kan oppdage feil, for eksempel delta check-regler. Vil du lære mer om preanalytiske feil, bør du ta en titt på «Preanalytical cases for educational purposes» laget av The Nordic preanalytical scientific working group, les mer om dette på side 13. Eller kanskje har du selv et preanalytisk case å sende inn til konkurransen som annonseres på side 14?

Moderne hematologiinstrumenter er generelt veldig gode til å telle og differensiere cellene, men de kommer fortsatt til kort når det gjelder å oppdage morfologisk patologi i erytrocyttene. Selv om de kan varsle om tilstedeværelse av schistocytter (fragmenterte erytrocytter), har flagget relativt lav sensitivitet

MAGLUMI® Chemiluminescence Immunoassay Test Menu (236 Parameters)

Glyco Metabolism

C-Peptide	IAA (Anti Insulin)
Insulin	Proinsulin
GAD 65	*Glucagon
Anti-IA2	*Anti-ZnT8
ICA	

Hepatic Fibrosis

HA	Laminin
PIIIP N-P	Cholyglycine
C IV	GP73



* Connectable to Inpeco Total Lab Automation 



* Biossays® E6 Plus

* MAGLUMI® X8

MAGLUMI® X3

* MAGLUMI® X6



og spesifisitet og må alltid bekreftes i mikroskop. Instrumentene kan dessuten ikke varsle om avvikende morfologi som f.eks. ovalocytose, stomatocytose, sfærocytose eller hemighosts (som kan sees ved glukose-6-fosfat dehydrogenasemangel), og heller ikke tilstedeværelse av inklusjoner som Howell-Jolly legemer, basofil punktering og Pappenheimer legemer. Funn i utstryk kan sette deg på sporet og hjelpe deg til å finne «den skyldige». Det handler ofte om å gjenkjenne mønstre som kan være med på å stille en diagnose. Hvis du for eksempel ser akantocytter, poikilocytose og enkelte Howell-Jolly legemer i tillegg til lett leukocytose med lett lymfocytose og monocytose - så kan du gjenkjenne dette mønsteret som typisk hos en splenektomert pasient. Mange ganger har jeg sett at leger både i allmennpraksis og på sykehus har bestilt gjentatte utvidede blodprøver og kontroller pga. lymfocytose/monocytose og kanskje trombocytose uten å se sammenhengen mellom disse avvikene og at pasienten er splenektomert. En kommentar om sammenhengen fra oss på laboratoriet kan da avverge videre utredning.



Det kan også være hjelp til å utelukke en mistenkt. En del pasienter med anemi (både innlagte og polikliniske) blir tilsynelatende nærmest rutinemessig henvist til utredning med gastroskopi/coloskopi, selv om anemien er uttalt makrocytær og/eller åpenbart (i hvert fall for en laboratorielege) ikke skyldes jernmangel/blødning. F.eks. kan de kliniske opplysninger på rekvisisjonen være jernmangelanemi og at pasienten er henvist til gastroskopi. Laboratorieprøvene viser imidlertid en lav serum jern og TIBC, høy ferritin og en svært lav HbA1c-verdi. Reflektiv testing med etterbestilling av andre relevante analyser fra oss på laboratoriet kan bidra til å avdekke at anemien mest sannsynlig skyldes en autoimmun hemolyse eller kanskje medfødt sfærocytose. Slik reflektiv testing kan spare pasienten for unødvendige undersøkelser (som gastroskopi/coloskopi og ny blodprøvetaking fordi det ikke lenger var mulig å etterbestille de relevante analysene) og bidra til raskere diagnostikk og behandling.

Vil du øve deg som detektiv innen hematologi/morfologi og samtidig lære mer morfologi, anbefaler jeg på det sterkeste deltakelse i UK Nequas sitt EQA-program som heter *Digital Morphology* med 6 caser per år (4). Programmet består av digitale blodutstryk med en kort tekst om problemstilling og blodverdier. Først skal man angi all patologi man ser i utstryket og deretter angi de fem viktigste funn og rangere dem etter betydning. Ofte får man til slutt spørsmål om forslag til diagnose. Dette er trening som gir mening!

Referanser

1. Hager HB, Andersen MT. A neonate presenting with jaundice, anemia, and thrombocytopenia. *Blood*. 2018;131(14):1627.
2. Arendt JF, Nexø E. Unexpected high plasma cobalamin : proposal for a diagnostic strategy. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC*. 2013;51(3):489-96.
3. Hager HB, Bolstad N, Warren DJ, Ness MV, Seierstad B, Lindberg M. Falsely markedly elevated 25-hydroxyvitamin D in patients with monoclonal gammopathies. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC*. 2020.
4. Hager H. Ekstern kvalitetssikring er spennende. *Klinisk biokemi i Norden*. 2018;30(2):4-6.

Ordförandespalten

Per Bjellerup

NFKK chairman

Dear reader of KBN!

The XXXIX Nordic Congress in Clinical Chemistry 2024 in Aula Medica, Stockholm

It is with great pleasure that we can announce that the planning of our Congress, is in “full steam ahead” mode. With “full steam ahead” I am referring to *Aula Medica*, where the Congress will take place, resembles a ship. This innovative building was designed by “Götaborgare” *Gert Wingårdh*, Sweden’s most famous contemporary architect. It will be a great place for our exciting and innovative Congress. Firstly, the *scientific programme* is full of excellent speakers who work in the forefront of their respective field. Secondly, a new theme, *Development and Improvements* is intended to promote discussions about how to improve our laboratory work. Thirdly, the *Early morning* sessions will be devoted to continuing education. At present, we are investigating whether these latter Congress sessions can generate continuing education credits for clinical and laboratory professionals. Charlotte Gran is skilfully at the helm of our “ship” as *President of the Congress*! Read more in this number of KBN or at the website <https://nfkk2024.se/>

Be inspired! How can you save millions of lives by your research in Clinical Chemistry?

I am deeply impressed by the scientific and pharmaceutical work described in this number by our colleague *Tore Curstedt*. Tore came to Karolinska Institutet in the 1960s to study medicine and soon started working on his thesis. After completion of his studies and thesis, Tore started working at the Department of Clinical Chemistry, Karolinska Hospital and a chance meeting with the pathologist *Bengt Robertson* led to the development of the medicine *Curosurf* (Rescue treatment of Respiratory Distress Syndrome in premature infants). The rest is medical history! Tore has received many prizes and honours and was awarded HM THE KING’S MEDAL 12th size with a bright blue ribbon in 2017. Read more on <https://karolinskainnovations.ki.se/20years/2020/09/25/curosurf/>



The Presidents of the Congress and NFKK, respectively, enjoying the snowy weather in Stockholm. We are looking forward to seeing you in Stockholm in September!
Foto: Alma Bjellerup

The NFKK Young Researcher award

As *Tore*’s career illustrates, you never know what research will lead to, and therefore NFKK is very pleased to support research within the field of Clinical Chemistry with a substantial prize. At every Nordic Congress since the 1970s it has been in the form of *The Astrup Prize*. For the last ten years *Professor Lars Melholt Rasmussen* has delivered a splendid work as chairman of the prize committee and with good financial sponsorship from *Siemens Healthineers*. However, as the saying goes, “All good things must come to an end” and the Astrup Prize will cease to be awarded, as the financial support is no longer available, mostly due to difficult sponsor rules. We thank both *Lars* and *Siemens* for their great work and support!

However, NFKK is very happy to announce a replacement in the form of a new prize, *NFKK Young Researcher Award* with financial support from the Congress itself. We are also very happy that *Lars* has accepted the appointment as chairman of this new prize committee. Read more in this number of KBN and at <https://www.nfkk.org/stipendier-priser/>

The winter has been amazing, at least in Stockholm. Cold, snowy, and sunny. And today *Jannik Sinner* won his first *Grand Slam Title* in *Melbourne*! Lovely!!

The days are getting longer, enjoy!

Abstracts for XXXIX Nordic Congress in Clinical Chemistry

Frida Duell, Andries Blokzijl

Co-chairs of abstract committee



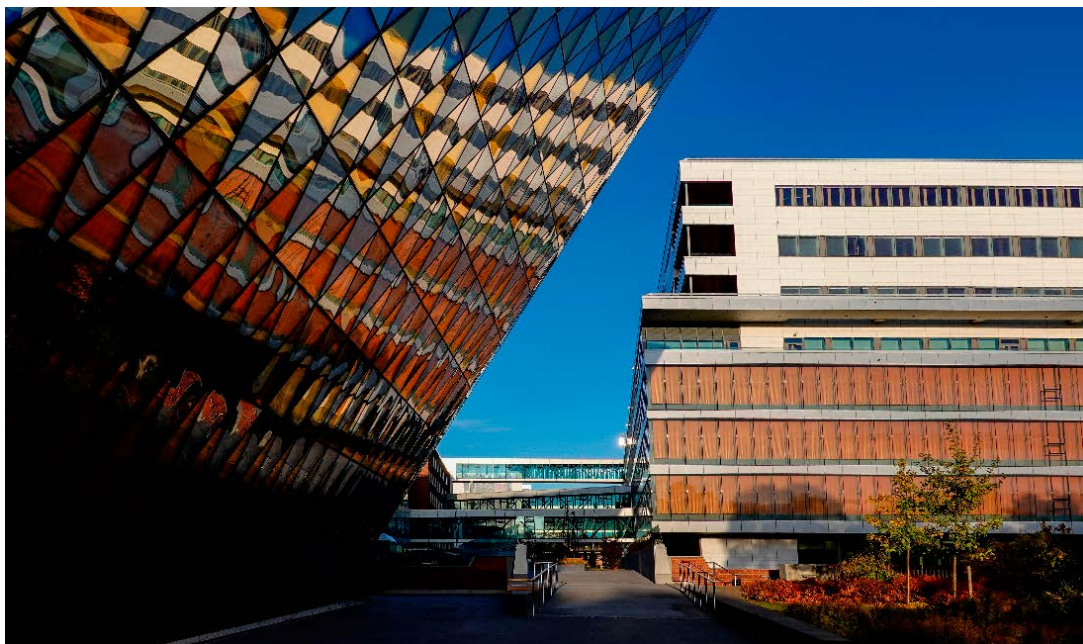
As the XXXIX Nordic Congress in Clinical Chemistry is approaching, we extend an invitation to contribute to the intellectual content of the congress. The call for abstracts opened on 30 January and will remain open until 15 April, addressing two main tracks, **Scientific and Development and Improvements.**

The Scientific track address a comprehensive spectrum of clinical chemistry topics, ranging from the history of biomarkers in clinical chemistry to the assimilation of big-data and AI in the clinic. We

are also proud to introduce a new and innovative abstract track, Development and Improvements, that will showcase the transformative change that occurs within our laboratories. It covers the continual refinement, proactive adaptations to emerging challenges, and the augmentation of laboratory capabilities. For this track we encourage submission outside the traditional scientific format to encompass a broader perspective of laboratory discipline. The aim is to highlight local innovative solutions that could be applied in other laboratories.

Poster awards for best abstracts

Abstracts will undergo review by our abstract committee. Selected abstracts deemed to be of a high scientific interest will be selected for oral presentations. Additionally, cash prizes will be awarded for the best abstracts, first prize of €1000 and a second prize of €500, within each of the two main tracks of



the conference. The winners will be selected by the scientific committee and presented on stage at the closing ceremony on Friday 20th.

Topics for Scientific and Development and Improvements tracks

For the abstracts we have several topics that can be selected for each of the two tracks. Detailed information on suggested themes within Developments and Improvements can be found on the homepage of the congress. A few of several suggested themes are; implementation of lean principles in workflows, devel-

opment of ongoing training programs for laboratory staff and task-shifting within the laboratory teams.

On the homepage, <https://nfkk2024.se>, you will also find the abstract guidelines and submission instructions. Submitting authors will be notified of acceptance or rejection of their abstract on 30th of May 2024, which will enable authors to register for the congress under the early bird fees.

On behalf of the abstract committee, we welcome you all to participate at the XXXIX Nordic Congress in Clinical Chemistry congress with your abstract.



Scientific

1. Cardiovascular
2. Coagulation
3. Neurodegenerative diseases
4. Data science
5. Kidney
6. Liver
7. Hematology
8. Cancer
9. Addiction
10. Endocrinology and fertility
11. Mass spectrometry

Development and Improvements

1. Laboratories in the future
2. Career and competence
3. Working environment /environment
4. Development and Improvements
5. Clinical Chemistry throughout history
6. Laboratory medicine in times of crisis

Helsingprisen 2023 tildeles Nils Bolstad for artikkelen *Immunoassay interference*

Helle B. Hager

Helsingprisen deles hvert år ut til den eller de forfattere som redaktørene mener har skrevet den beste artikkelen i *Klinisk Biokemi* i Norden det foregående år. Både innhold og språk skal være spesielt bra. Prisen ble opprettet i 2006 for å hedre minnet om KBNs grunnlegger, Kristoffer Helsing.

Helsingprisen 2023 tildeles Nils Bolstad fra Avdeling for medisinsk biokjemi ved Oslo universitetssykehus, Radiumhospitalet, for hans artikkel «Immunoassay interference» som kan leses i blad nr. 4 2023. Artikkelen er meget velskrevet og gir en flott oversikt over temaet interferens i immunologiske analysemetoder. Nils Bolstad disputerte i 2020 ved Institutt

for klinisk medisin, Universitetet i Oslo med tittelen ”Heterophilic Antibody Interference in Immunometric Assays”.

Prisen består som vanlig av et kunstverk – som kanskje kan inspirere forfatteren til å skrive flere gode artikler til KBN. Årets Helsingpris er den 16. i rekken. Syv ganger har prisen gått til danske forfattere, fem ganger til norske og fire ganger til svenske forfattere (se oversikten på neste side). Når det er to forfattere, deles prissummen på to, men er det tre eller flere forfattere går hele prissummen som skal brukes på et kunstverk, til førsteforfatter.



Helsingprisvinneren 2023, Nils Bolstad. Kunstverket som Nils har valgt er en etsning med tittelen «Bauta» av den norske kunstneren Ingrid Lilja Arntzen.

År	Prisvinner	Artikeltitel	Land
2006	Mads Nybo	Faste - hvad er det?	Danmark
2007	Tor-Arne Hagve	Fra mikroskop til flowcelle	Norge
2008	Johan Bjerner, (Elvar Theodorsson, Ragnhild Wergeland og Lars Mørkrød)	Referensintervaller – en praktisk veiledning	Norge
2010	Christer Alling	Fosfatidyletanol – molekyl på villovägar som hittade rätt	Sverige
2012	Steen Stender	Laboratorieresultater, der skaber lovændringer	Danmark
2013	Theis Itenov og Jens-Ulrik Jensen	Procalcitonin: Er evidens fra store randomiserede kliniske studier nødvendigt før indførelse af biomarkører før sepsis?	Danmark
2014	Ulf Nyman og Jonas Björk	Med dagens kreatininmetoder ger den reviderade Lund-Malmö-formeln säkrare GFR-skattningar än MDRD och CKD-EPI	Sverige
2015	Gunnhild Kravdal	Analyse av nyrestein med infrarød spektroskopi	Norge
2016	Ebba Nexø og Johan Frederik Håkonsen Arendt	Seks spørgsmål om vitamin B12	Danmark
2017	Elvar Theodorsson	Validation and verification in clinical chemistry	Sverige/Island
2018	Kaja Kristine Selmer og Magnus Dehli Vigeland	Epigenetik- en molekylær bro mellom arv og miljø	Norge
2019	Louise Ambye, (Finn Stener Jørgensen og Line Rode)	Føtalmedicin i laboratoriet	Danmark
2020	Julie Brogaard Larsen, (Tina Parker og Holger Jon Møller)	Tolkning av laboratorieanalyser ved COVID-19	Danmark
2021	Mie Samson	Kolde facts om kryoproteiner	Danmark
2022	Anders Hellander	"Alkoholtester – vilka bör användas, hur och vad säger testresultatet?"	Sverige
2023	Nils Bolstad	Immunoassay interference	Norge

Vem var Kristoffer Helsing?

Kristoffer var en utåtriktad och publicistisk svensk klinisk kemist, med bas i Uppsala och med proteinkemi som sitt fält. Dock minns vi honom mest för hans kontaktskapande arbete, bl a genom att starta KBN i 1989 och även den svenska föreningens tidskrift. Kristoffer, eller Krister, som många kallade honom, grundade också den svenska externa kvalitetsorganisationen Equalis. Också här värnade han om det utåtriktade. De folkliga och fullsatta användarmöten som han skapade, som intellektuell bas för kollegialt utvecklande, lever vidare i god hälsa.



The NFKK Young Researcher Award

Per Bjellerup¹, Lars Melholt Rasmussen²

¹NFKK Chairman

²Award Committee Chairman



The Nordic Society for Clinical Chemistry rewards contemporary Nordic research work related to the field of clinical chemistry by the

NFKK Young Researcher Award. The competition for the prize will take place every second year and will be awarded for the first time at the XXXIX Nordic Congress in Clinical Chemistry in Stockholm, Sweden, 17-20 September 2024.

Scientists below 40 years of age who have not previously received the Astrup 1st Prize and who are working in one of the Nordic countries, are invited to submit an abstract of recent scientific work with a maximum length of 1000 words (including references) and not more than two illustrations. The work can be either unpublished or recently published (defined as published after the last Prize competition abstract deadline, i.e. appearing on PubMed after March 2022). Incoming abstracts are judged by a committee, consisting of five senior scientists within the clinical chemistry field – one from each Nordic country. Three abstracts

are selected for oral presentation at the Nordic Congress. The individual presentation should not exceed 20 minutes and will be followed by a free discussion. Based on the scientific value of the paper, and the quality of the oral presentation, the prize committee will award 3 prizes at a value of respectively DKK 40,000, DKK 20,000 and DKK 10,000 for 1st, 2nd and 3rd prize.

Abstracts, stating name and affiliation of the author, should be e-mailed to Professor Lars Melholt Rasmussen, Odense, Denmark, Chairman of the prize committee at e-mail: lars.melholt.rasmussen@rsyd.dk

All abstracts must include the applicant's C.V. also stating date of birth. **Deadline for receipt of abstracts is Monday, the 3rd June, 2024.**

The three nominated scientists are invited to publish their presentation, either as a regular paper or as part of a review in The Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation (SICLI). In addition, they are expected to write a summary in *Klinisk Biokemi i Norden* (KBN). The manuscripts must be submitted before the 1st November, 2024.

Please address questions regarding the NFKK Young Researcher Award to Lars Melholt Rasmussen. E-mail: lars.melholt.rasmussen@rsyd.dk



The Nordic preanalytical scientific working group

Mads Nybo

Department of Clinical Biochemistry

Odense University Hospital

mads.nybo@rsyd.dk



The working group has existed since 2016 and is supported by NFKK. The group aims to promote the importance of the quality of the preanalytical phase in the Nordic countries by conducting surveys to assess the current practices. It aims to provide recommendations, write opinion letters, and it has also organized several sessions on preanalytical issues at meetings and conferences.

The current working group members are

Britta Willman, Laboratory medicine, clinical chemistry, University Hospital Umeå, Sweden

Gunn B. Kristensen, Norwegian Quality Improvement of laboratory examinations (Noklus), Bergen, Norway

Jonna Pelanti, Labquality, Finland

Mads Nybo, Dept. of Clinical Biochemistry, Odense, Denmark

Ongoing projects

We often meet a difficulty in explaining non-laboratory personnel about the preanalytical issues – why are they so important? We have therefore tried to create a “case library” for everyone to use for “persuational” purposes, for education – or just as an inspiration. You can find this at the NFKK homepage – www.nfkk.org/arbetsgrupper/preanalytik. We would however like *more* preanalytical cases and have therefore applied for intriguing cases in this number of KBN - please see page 14.

The use of pneumatic transportation systems are rapidly increasing for transport of blood samples, but do we know enough about the preanalytical impact of these – and do we have a QC system to contain this?

To elucidate this, we conducted a Nordic survey in 2018, which unfortunately did not get finalized due to Covid-19. We will therefore try to do update this, and we will be sending an updated questionnaire through our national societies – please participate!

Another “old feature” is a Nordic recommendation on blood sampling. But is it really needed and/or relevant? To decide this, we will send out another (sorry) short questionnaire in March 2024, hoping that we can lay out the wishes for this at the NFKK Congress in Stockholm.

Also, the implementation of the Nordic fasting definition (as recommended by the Working group in 2018) is yet to come in use in most of the Nordic countries. We will therefore prepare an “implementation package” for the national societies with a cover letter and instructions for the distribution – hopefully, it can help us all on the way.

Finally, the working group is about to finalize a recommendation on how to handle hemolysed samples – a task we all struggle with on a daily basis.

Upcoming projects

As if these projects were not enough, the working group has also some projects in the pipeline. These include the use of Preanalytical Quality Indicators (and which to use), how to ascertain the preanalytical phase when using POCT, and a project on whether samples really must be transported in an upright position – something most of us state, we do, but in fact, we don't.

Altogether, the working group is busy – and are really keen on finalising some of its tasks. We therefore hope to see as many as possible to the Preanalytical session at the **NFKK Congress in Stockholm this autumn**, where we will present the recommendations and survey results mentioned above.

Tell us your best preanalytical story and win a free entrance to the NFKK Nordic congress in Stockholm!

Jonna Pelanti

Labquality

On behalf of the Nordic Scientific working group on preanalytics



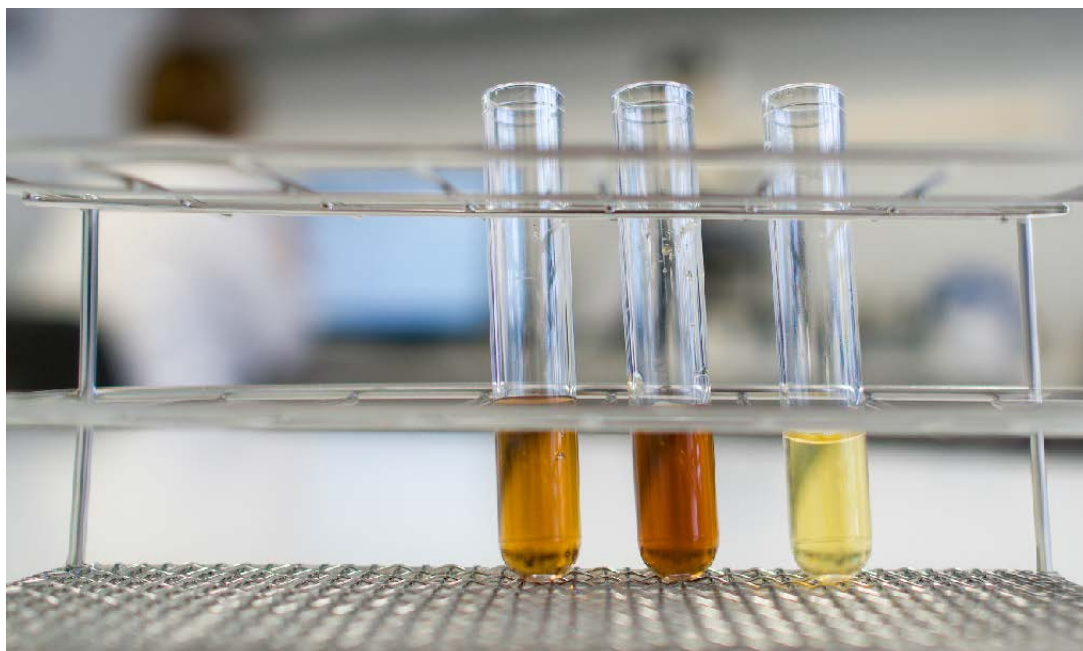
The Nordic Scientific working group on preanalytics has published a set of preanalytical cases on the NFKK website freely available for everybody for educational use: https://www.nfkk.org/wp-content/uploads/Preanalytical-cases_11_2018-1.pdf

We would need more cases and we know that there are a lot of good cases that live on in the coffee rooms and as stories told to coworkers. Please let us know of the best preanalytical case that you have encountered and you can win a free entrance to the NFKK Nordic congress in Stockholm, Sweden 17-19 September, 2024. Please note that when participating in this competition, you give us the right to publish your preanalytical case in our preanalytical case set on the NFKK website.

Two important things: There is a maximum of 2.000 words. And the deadline is **May 1 2024**.

Fill in your case here:

<https://link.webpolsurveys.com/S/3D241B9785B9A8F9>



From left: Non-carbonated Coca-cola, serum from a patient who was receiving high doses of Eltrombopag (an oral thrombopoietin receptor agonist that cause discoloration of blood) and normal serum with a light yellow colour (1). Photo: Helle B. Hager. 1. Hager HB, Moksnes M, Brokner M. Brown serum. *Tidsskr Nor Legeforen* 2021; 141.

Development of surfactant for treatment of premature infants with immature lungs

Tore Curstedt

Associate professor

Department of Molecular Medicine and Surgery

Karolinska Institutet, Stockholm



Abstract

Respiratory distress syndrome (RDS), which depends on insufficient amounts of pulmonary surfactant, was previously the leading cause of morbidity and mortality in preterm babies. Trials of surfactant replacement in the 1960s

were unsuccessful because the artificial preparations only contained phospholipids. In the 1980s professor Bengt Robertson at Karolinska Institutet and myself developed a porcine surfactant, poractant alfa, with the trade name Curosurf® (named after our surnames) and the first premature baby was treated on vital indication in 1983. Subsequent randomized clinical trials were planned and the first of them started in 1985. This showed that Curosurf reduced pulmonary air leaks and neonatal mortality in preterm infants with severe RDS. Today more than six million preterm babies have been treated with Curosurf and it is calculated that more than one million of these babies had died if not treated with Curosurf.

A synthetic surfactant, CHF5633 (developed by professor Jan Johansson at Karolinska Institutet and myself), has undergone phase 1 and phase 2 studies. This synthetic surfactant seems to be as effective as Curosurf and could be made consistently and safely in almost unlimited quantities.

Introduction

The leading cause of morbidity and mortality in preterm babies was previously hyaline membrane disease, later called respiratory distress syndrome (RDS). The babies turned blue and many of them died within a couple of days – nobody understood why they died. In 1959, Avery and Mead (1) showed that these preterm babies had no or insufficient amounts of a surface-active material, namely surfactant, lining

the pulmonary alveoli. With about 140 million births per year globally, we can assume that 10–15 million babies are born preterm. About 10 percent of preterm babies develop RDS, and in the 1960s about 50% of these babies died indicating that nearly one million preterm babies died per year because of RDS.

Pulmonary surfactant is a lipid/protein mixture that is secreted by the alveolar epithelium and lines the small airways and alveoli. Its primary function is to reduce the surface tension of the liquid lining layer present in the terminal air spaces (1), thus facilitating for the alveoli to expand during inspiration and preventing them to collapse during expiration. The capacity of surfactant in lowering surface tension was at least partly explained by its high content of phosphatidylcholines (2), especially dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) (3). This molecule has a solid-liquid crystal transition temperature of 41.5°C, indicating that it will not spread in an air-liquid interface at body temperature if it is not mixed with other compounds that reduce the transition temperature. The first attempts to treat RDS were performed with pure DPPC given by aerosol. The authors of one of these studies were so disillusioned that they implied that the underlying cause of RDS was low pulmonary blood flow rather than a primary surfactant deficiency (4). However, enhanced spreading of DPPC may be obtained by adding various unsaturated phospholipids to the DPPC.

Isolation and characterization of porcine surfactant

The lipid composition of pulmonary surfactant is very complex, with DPPC being the major surface-active component. However, treatment of preterm animals with synthetic preparations containing DPPC and various unsaturated lipids has had limited success.

I first met Bengt Robertson, professor in pathology

at Karolinska Institutet in Stockholm, in 1980. Bengt Robertson had his *in vitro* and *in vivo* models for testing surfactant preparations and I had my methods for isolation and separation of hydrophobic compounds, especially phospholipids. Bengt Robertson had made a surfactant preparation from animal lung wash which was supposed to have a very low content of proteins by a combination of centrifugation and extraction with organic solvents, followed by heating for 1 h at 90 °C to denature the proteins. He told me that the surfactant preparations sometimes did not function at all in his animal model and he asked me if I could analyze the phospholipid composition in the preparations. Since heating may decompose the phospholipids, this method is not suitable for preparing surfactant in a reproducible way. I suggested that we should use the methods I had developed for isolating phospholipids from different sources. We decided to start with porcine lungs because it was possible to get them free from the slaughterhouses in Sweden.

The lungs from recently slaughtered pigs were minced and the tissue fragments washed with normal saline. After filtration the crude surfactant was extracted with organic solvents and the phospholipids were isolated by liquid-gel chromatography on a column of Lipidex-5000 in organic solvents (5-7). The phospholipid fraction was dried and suspended in sterile saline at a concentration of 80 mg of phospholipids/mL. The lungs from one adult pig gave enough material to treat two newborn babies with body weights of about one kg. This surfactant was given the name Curosurf (Curstedt-Robertson-surfactant). The surfactant could be produced in a reproducible way in large quantities and functioned very well both *in vitro*, using the pulsating bubble test, and *in vivo* in newborn preterm rabbits (5-7). However, the manufacturing process was very time consuming and for the production of a batch for treatment of 80 – 100 preterm babies, lungs from about 50 adult pigs were needed. This number of porcine lungs was processed nearly every month in the university hospital laboratory in Stockholm. We realized that it would be impossible to produce enough surfactant for clinical trials in a hospital laboratory. The Swedish pharmaceutical companies were not interested since the world market was too small. In 1987 we met Chiesi Farmaceutici in Parma, Italy, and since then we have had an agreement with them about porcine and synthetic surfactants.

The phospholipid fraction contained 1 – 2% proteins (8) and together with professor Hans Jörnvall at Karolinska Institutet and his student Jan Johansson, now a professor at Karolinska Institutet, the amino acid sequences of the two hydrophobic proteins SP-B (9) and SP-C (10) in the phospholipid fraction were determined. The disulfide bridges in SP-B were determined and it was shown that SP-B was a dimer (9). SP-C was shown to be a lipopeptide with two palmitoylated cysteine residues (11). SP-B and SP-C are essential for the function of surfactant by spreading of the surfactant phospholipids in the alveoli.

First treatment of an infant with RDS

When the development of Curosurf was still in the experimental phase, but tested in more than a thousand preterm rabbit fetuses with good results, the Head of the Children's Department at St. Görans Hospital in Stockholm in June 1983 asked if we had any surfactant that could be given on 'vital indication' to a preterm boy with RDS, born in the 27th gestational week with a body weight of 795 g (12). Conventional treatment could not offer anything more and he thought that the little boy would die within a couple of hours. We had his written consent as well as the consent of the parents to treat the infant with surfactant. The surfactant was suspended in normal saline (80 mg phospholipids/ml) and given at a dose of 200 mg/kg. The little cyanosed preterm boy, who was being ventilated with 85% oxygen, was given the surfactant suspension intratracheally. He became pink almost immediately and within 2 h he was being ventilated with air and today he is 40 years old (Fig.1).

Clinical trials with porcine surfactant (Curosurf)

The first treatments of severe RDS with Curosurf based on 'vital indications' took place from 1983 to 1984 and the report was published in 1987 (5). A total of 10 preterm babies (795 – 1,680 g birth weight) were given 200 mg/kg of Curosurf at a median age of 10.5 h. The arterial-to-alveolar oxygen tension ratio increased from 0.10 to 0.35 and chest radiographs showed clearing of the lung fields.

A European Multicenter Study started in early 1985 and Curosurf was the first surfactant preparation shown to significantly reduce neonatal mortality in preterm infants with RDS (13). In addition, this trial showed a reduction in pulmonary air leaks and an



increase in survival without chronic lung disease. A later trial showed that multiple doses of Curosurf compared with a single dose led to improved oxygenation and survival, with reduced pneumothorax. In two further trials published in 1993 early treatment was shown to be superior to later treatment (13).

Three trials performed in the 90ies confirmed that for babies of less than 31 weeks of gestation prophylactic treatment was associated with less severe RDS, less chronic lung disease, less severe intraventricular hemorrhage, and improved survival (13). These early trials with Curosurf demonstrated the benefits of surfactant in the treatment of severe RDS, with further improvement in outcomes with multiple doses and earlier or prophylactic treatment.

New-generation synthetic surfactant

Animal-derived surfactant preparations, obtained from lung wash or minced lungs, are very effective in the treatment of preterm infants with RDS, but they are expensive and supplies are limited. There have also been concerns about the potential risk of immunogenic and infectious complications using these preparations, but after treatment of millions

of infants no adverse effects of this nature have been described (14). To widen the indications for surfactant treatment there was a need for synthetic preparations, which can be produced in large quantities at a reasonable cost. The structure of the hydrophobic surfactant proteins SP-B and SP-C are known, but the development of synthetic surfactants has met several difficulties. The structural complexity and instability of SP-B and SP-C have been overcome by the synthesis of stable and rather simple analogues of SP-B and SP-C (15,16). Furthermore, incomplete knowledge of the function of some phospholipids in surfactant, in combination with limited commercial availability of many synthetic phospholipids, has resulted in the use of very simple phospholipid mixtures in synthetic surfactant preparations.

Jan Johansson, professor at Karolinska Institutet, and myself have in collaboration with Chiesi Farmaceutici developed a synthetic surfactant with the working name CHF5633, containing both an SP-B and an SP-C analogue in a phospholipid mixture of DPPC – palmitoyloleoylphosphatidylglycerol 1:1 (w/w). The synthetic surfactant was as effective as animal-derived surfactants in the treatment of extremely

immature newborn animals with surfactant deficiency, and seemed more resistant to inactivation than natural-derived surfactants (7).

In October 2012, the first study in humans (phase I) was initiated to evaluate the intratracheal administration of CHF5633. It was followed by a phase II trial in USA (17) as a multicentre trial in twenty-three centres randomizing infants needing surfactant in a head-to-head comparison with Curosurf. Infants less than 34 weeks gestation with RDS were eligible. Improvements in oxygenation were identically in both arms, with the synthetic surfactant CHF5633 apparently behaving exactly like the natural surfactant Curosurf (17).

Preclinical trials with combo surfactant

The concept of Combo peptides was introduced by fusing an SP-B analogue and an SP-C analogue with a short linker in between (18,19). The SP-B and SP-C analogues used to create Combo peptide were the result of several modifications of the parent proteins (18). The newest Combo peptide is produced in *E. coli* (19). We obtained about 7 mg pure Combo peptide per litre shake flask culture. Growing the bacteria in a bioreactor increased the total cell yield about 50-fold, corresponding to a Combo peptide yield of >400 mg per litre culture. Thus, the peptide obtained from one litre culture is enough to treat 60 – 70 preterm babies. Treatment of preterm rabbit fetuses with Combo surfactant and Curosurf significantly improved tidal volumes and prevented alveolar collapse at end-expiration, compared to non-treated controls.

Conclusion

The introduction of surfactant treatment into clinical practice has dramatically altered the outcome for preterm infants with, or at high risk of developing, RDS. Apart from a reduction in neonatal mortality and pulmonary air leaks, surfactant therapy has had a significant effect in lowering overall infant mortality in the developed world. It is calculated that Curosurf as today has saved more than one million lives (Fig.2). Future developments in the treatment of neonatal respiratory disorders include the production of new-generation synthetic surfactant preparations (19,20) and a better understanding of the genetic causes of acute and chronic neonatal lung diseases.

References

1. Avery ME, Mead J. Surface properties in relation to atelectasis and hyaline membrane disease. *Am J Dis Child* 1959;97: 517–523.
2. Klaus MH, Clements JA, Havel RJ. Composition of surface-active material isolated from beef lung. *Proc Natl Acad Sci USA* 1961;47:1858–1859.
3. Brown ES. Isolation and assay of dipalmityl lecithin in lung extracts. *Am J Physiol* 1964;207:402–406.
4. Chu J, Clements JA, Cotton EK, et al. Neonatal pulmonary ischemia. I. Clinical and physiological studies. *Pediatrics* 1967;40(suppl):709–782.
5. Noack G, Berggren P, Curstedt T, et al. Severe neonatal respiratory distress syndrome treated with the isolated phospholipid fraction of natural surfactant. *Acta Paediatr Scand* 1987;76:697–705.
6. Robertson B, Curstedt T, Johansson J, et al. Structural and functional characterization of porcine surfactant isolated by liquid-gel chromatography. *Prog Respir Res* 1990;25:237–246.
7. Curstedt T, Halliday HL, Speer CP. A Unique Story in Neonatal Research: The Development of a Porcine Surfactant. *Neonatology*. 2015;107:321–329.
8. Curstedt T, Jörnvall H, Robertson B, et al. Two hydrophobic low-molecular-mass protein fractions of pulmonary surfactant. Characterization and biophysical activity. *Eur J Biochem* 1987;168:255–262.
9. Johansson J, Curstedt T, Jörnvall H. Surfactant protein B: disulfide bridges, structural properties and kringle similarities. *Biochemistry* 1991;30:6917–6921.
10. Johansson J, Curstedt T, Robertson B, et al. Size and structure of the hydrophobic low molecular weight surfactant-associated polypeptide. *Biochemistry* 1988;27:3544–2547.
11. Curstedt T, Johansson J, Persson P, et al. Hydrophobic surfactant-associated polypeptides: SP-C is a lipopeptide with two palmitoylated cysteine residues whereas SP-B lacks covalently linked fatty acyl groups. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:2985–2989.

12. Berggren P, Curstedt T, Grossmann G, et al. Gynnsam effekt av surfaktantbehandling vid IRDS. *Lakartidningen* 1984;45:4180–4182.
13. Halliday HL. History of surfactant from 1980. *Biol Neonate* 2005;87:317–322.
14. Kattwinkel J. Synthetic surfactants: the search goes on. *Pediatrics* 2005;115:1075–1076.
15. Almlen A, Stichtenoth G, Linderholm B, et al. Surfactant proteins B and C are both necessary for alveolar stability at end expiration in premature rabbits with respiratory distress syndrome. *J Appl Physiol* 2008;104:1101–1108.
16. Almlen A, Walther FJ, Waring AJ, et al. Synthetic surfactant based on analogues of SP-B and SP-C is superior to single-peptide surfactants in ventilated premature rabbits. *Neonatology* 2010;98:91–99.
17. Ramanathan R, Biniwale M, Sekar K, et al. Synthetic Surfactant CHF5633 Compared with Poractant Alfa in the Treatment of Neonatal Respiratory Distress Syndrome: A Multicenter, Double-Blind, Randomized, Controlled Clinical Trial. *J Pediatr*. 2020;225:90-96
18. Basabe-Burgos O, Landreh M, Rising A, et al. Treatment of Respiratory Distress Syndrome with Single Recombinant Polypeptides that

- Combine Features of SP-B and SP-C. *ACS Chem Biol*. 2021;16:2864-2873.
19. Mikolka P, Kronqvist N, Haegerstrand-Björkman M, et al. Synthetic surfactant with a combined SP-B and SP-C analogue is efficient in rabbit models of adult and neonatal respiratory distress syndrome. *Transl Res*, 2023; doi 10.1016/j.trsl.2023.07.009.
20. Johansson J, Curstedt T. Synthetic surfactants with SP-B and SP-C analogues to enable worldwide treatment of neonatal respiratory distress syndrome and other lung diseases. *J Intern Med* 2019;285:165-186.

Figur 2.

Some facts about Curosurf

- more than 6 million preterm infants treated
- more than 1 million lives saved
- about 70 - 75 % market share
- launched in 1992/1993 in Europe
- available in about 100 countries
- limited supply – synthetic surfactant needed

Figur 1. Patrik and myself in 2016. Patrik was the first person treated with Curosurf in June 1983.



Historien om Yngre Læger i Klinisk Biokemi i Danmark

Nikki Have Mitchell

Klinisk Biokemisk Afdeling

Amager og Hvidovre Hospital

nikki.have.mitchell@regionh.dk

– på vegne af YLKB's bestyrelse

Yngre Læger i Klinisk Biokemi (YLKB) blev etableret som en undergruppe af Dansk Selskab for Klinisk Biokemi (DSKB) i 2016. Formålet med stiftelsen af YLKB var, at sikre et fagligt såvel som socialt netværk for yngre læger i klinisk biokemi på tværs af landet, og således skabe et grundlag for erfaringsudveksling og forskningssamarbejde. Med andre ord: en gruppe af yngre læger – for yngre læger.

YLKB er repræsenteret ved en bestyrelse bestående af læger under uddannelse fra hele landet. I udgangspunktet mødes bestyrelsen derfor i forbindelse med de obligatoriske uddannelseskurser, som vanligtvis afholdes to gange årligt. Jeg selv blev en del af YLKB's bestyrelse i maj 2019 i forbindelse med mit allerførste speciallægeuddannelseskursus. Trods mit lidt grønne udgangspunkt blev jeg foreslået at stille op til posten som forperson, da jeg potentielt havde lang tid foran mig i rollen som uddannelseslæge, og dermed kunne bibringe kontinuitet til bestyrelsen. Jeg tog opfordringen som en anerkendelse, stillede op – og blev valgt (muligvis hjulpet af det faktum, at der ikke var andre kandidater). Min rolle som forperson endte 7/9-2023. I de lidt over 4 år jeg var med, voksede YLKB's rolle i takt med en tiltagende grad af involvering i en række opgaver, dette takket være de mange yngre læger i specialet med gode idéer og imponerende gå-på-mod.

For at give et indblik i YLKB's arbejde, vil jeg herunder præsentere nogle af de projekter og arrangementer, som YLKB har været involveret i.

Spørgeskemaundersøgelser blandt yngre læger

Ved den 14. danske kongres i Klinisk Biokemi (Aarhus

2019) bidrog YLKB's bestyrelse med en session med temaet: "Forskning i Klinisk Biokemi i hverdagen". Her præsenterede vi en spørgeskemaundersøgelse foretaget blandt yngre læger, og der blev afholdt en paneldebat, der omhandlede, hvordan forskningskulturen var blandt de yngre læger rundt om i landet.

Ved et DSKB-medlemsmøde i 2021 præsenterede YLKB's bestyrelse ligeledes en spørgeskemaundersøgelse foretaget blandt de yngre læger i specialet. Denne gang omhandlede det tanker og bekymringer for det fremtidige arbejdsliv i klinisk biokemi, et emne affødt af snak om mulig sammenlægning af udvalgte laboratoriespecialer.

YLKB har således været med til at danne en ramme for, at de yngre lægers perspektiv bliver repræsenteret.

YLKB-siden i DSKB-nyt

DSKB-nyt er det danske selskabs faglige blad, som udgives fire gange om året – i et format meget lignende KBN. Et fast indslag i hvert nummer af DSKB-nyt er *YLKB-siden*, hvor yngre læger bidrager med et indlæg. Det er YLKB's bestyrelse, som har ansvaret for, at der bliver leveret indlæg hver gang, og det giver os som yngre læger en platform, hvor vi kan skrive om de ting, der rør sig rundt omkring i landet.

Udover det faste indlæg bidrager yngre læger også med biokemiske cases til DSKB-nyt, typisk noget lærerigt som man som yngre læge kan bruge i sin dagligdag.

Generel information til alle yngre læger

YLKB's bestyrelse står også for videreformidling af generel information til alle yngre læger i landet. Man kan således blot henvende sig til YLKB's bestyrelse, hvis man ønsker at nå bredt ud. Denne kommunikationsvej bliver eksempelvis benyttet, når der skal findes interesserede kandidater til repræsentantskaber i diverse udvalg.

Faglig opgave: oversigt over medikament- og misbrugsanalyser

En konkret faglig opgave som YLKB's bestyrelse har taget på sig, er udarbejdelsen af en oversigt over alle medikament- og misbrugsanalyser, der bliver udført på de forskellige laboratorier i Danmark. Pointen med listen er, at stille en nemt overskuelig oversigt til rådighed for en konkret gruppe af analyser, der kun udføres relativt få steder i landet. Listen findes på DSKB's hjemmeside, <https://dskb.dk/laegemiddelanalyser/>.

Første årsmøde

I september 2023 blev det første årsmøde for yngre læger i klinisk biokemi afholdt med stor opbakning og deltagelse af cirka 50 yngre læger fra hele landet. Planlægning og eksekvering af arrangementet var et samarbejde mellem YLKB's bestyrelsesmedlemmer og Nicolai Jacob Wewer Albrechtsen (afdelingslæge, Bispebjerg og Frederiksberg Hospital, Klinisk Biokemisk Afdeling).

Temaet for mødet var klinisk biokemi og omverdenen, herunder hvilke muligheder, der er for at arbejde i og samarbejde med industrien. Desuden havde vi en debat om, hvordan andre laboratoriespecialer og Sundhedsstyrelsen ser på et øget samarbejde mellem laboratoriespecialer. Formatet var en blanding af oplæg og paneldebat.

DSKB og YLKB

Selvom YLKB og DSKB har separate bestyrelser, så



er der stadig en dialog og et samarbejde bestyrelserne imellem. Eksempelvis henvender DSKB's bestyrelse sig, hvis de ønsker noget undersøgt blandt yngre læger, eller ønsker et indlæg ved et møde eller lignende arrangeret af yngre læger. Omvendt kan YLKB's bestyrelse henvende sig til DSKB, hvis yngre læger har ønsker eller inputs.

Fremtidsplaner

YLKB er stadig en ung organisation, og er endnu ved at finde sit ståsted. Den store vision er dog uændret; at bidrage til, at der kommer flere sammentømrende tiltag for de yngre læger i hele landet. For nuværende er planlægningen af endnu et årsmøde i gang, og det involverer igen både læger i og udenfor repræsentantskabet i YLKB-bestyrelsen.

Vi håber at YLKB kan cementere sin rolle som en organisation, der afspejler og er drevet af dets medlemmers ønsker og behov.

Afrundende vil jeg blot sige, at det for mig har været en udsøgt fornøjelse at være en del af bestyrelsen. Jeg vil glæde mig til fortsat at bidrage til det tætte samarbejde alle yngre læger i klinisk biokemi i mellem.

YLKB's nuværende bestyrelse

Stine Krogh Venø (Klinisk Biokemisk Afdeling, Aalborg Universitetshospital)

Camilla Bjørnbak Holst (Klinisk Biokemisk Afdeling, Bispebjerg og Frederiksberg Hospital)

Eline Sandvig Andersen (Biokemi og Immunologi, Sygehus Lillebælt)

Silje H. Christensen (Blodprøver og Biokemi, Aarhus Universitetshospital)

Anne-Birgitte Garm Blavnsfeldt (Blodprøver og Biokemi, Aarhus Universitetshospital)

Kaja Kastberg Faurø (Blodprøver og Biokemi, Odense Universitetshospital)

Josefine Freyberg Justesen (Klinisk Biokemisk Afdeling, Sjællands Universitetshospital)

cobas®



cobas[®]

Green reagenskoncept

Reducerer det manuelle arbejde
– Brug manpower mere optimalt!

- Optimerer anvendelse af reagenserne med den længste holdbarhed ombord
- Der er:
 - Ingen forberedelse
 - Ingen blanding Ingen låg, der skal fjernes
 - Ingen ventetid
- cobas[®] AutoCal; sparer tid og penge. Det er ikke nødvendigt at kalibrere, dette udføres automatisk
- Alle disse fordele giver hurtigere og korrekte svar

Tekniker för att hantera prover där man misstänker förekomst av störande antikroppar

Anders Larsson, Klinisk Kemi och Farmakologi, Uppsala

Henrik Alfthan, HUSLAB, Helsingfors



Störande (interfererande) antikroppar är ett problem när vi använder oss av immunologiska metoder för att mäta proteinkoncentrationer. Det kan röra sig om antikroppar som binder sig till proteinet och på så sätt minskar utsöndringen via njurarna vilket leder till högre plasmanivåer. Det kan också vara antikroppar som binder till våra antikroppar i själva analysmetoden. Oftast leder detta till starkare signal då den heterofila antikroppen bildar en brygga mellan uppfångande och detekterande antikropp. Det finns också antikroppar som binder till samma region på testantikropparna som proteinet skall binda till och därmed konkurrerar ut bindningen, vilket leder till en lägre signal. Nils Bolstad skrev en mycket bra artikel om detta i förra numret av Klinisk Biokemi i Norden. I den här artikeln fokuserar vi mer på hur vi på laboratoriet kan eliminera interferensproblem eller åtminstone identifiera att interfererande antikroppar förekommer och att analysresultatet därför är osäkert eller helt felaktigt.

Vad kan vi då göra om vi misstänker förekomst av störande antikroppar när vi analyserar prover med kommersiella kit?

1. Skicka provet till annat laboratorium för att få analysresultat med annan metod. Firmorna tillsätter olika saker för att motverka effekter av interfererande antikroppar, men effektiviteten skiljer sig ofta mellan metoderna. En klar metodskillnad talar för förekomst av interfererande antikroppar.
2. Analysera provet i en spädningsserie. Späder vi ett

prov 1:2 så bör vi få halva analysresultatet. Det bygger på att analysantikropparna har samma affinitet för biomarkören i kalibratoren som i provet. Mäter vi samma sak så bör affiniteten vara densamma. En heterofil antikropp har med största sannolikhet en helt annan affinitet än biomarkören. Det innebär att när vi späder ett prov med störande antikropp 1:2 så får vi inte halva värdet utan något helt annat. Vi brukar använda oss av ospätt prov, 1:2 och 1:4 för att bedöma om det finns störande antikroppar. En avvikelse mellan förväntat värde och uppmätt värde efter spädning talar för förekomst av interfererande antikroppar.

3. Tillsats av extra immunglobuliner till provet. Ofta är antikropparna i testsystemen från mus, get eller kanin. Om vi tillsätter IgG från dessa djurslag så konkurrerar vi ut bindningen till våra analysantikroppar. När vi körde egna RIA metoder i Uppsala så tillsattes det 1 uL kaninserum till proverna när de analyserades. Det minskade förekomst av interferens.
4. Ta bort de störande antikropparna före analysen.

Att ta bort de störande antikropparna kan göras på flera olika sätt:

Polyetylenglykol (PEG) fällning

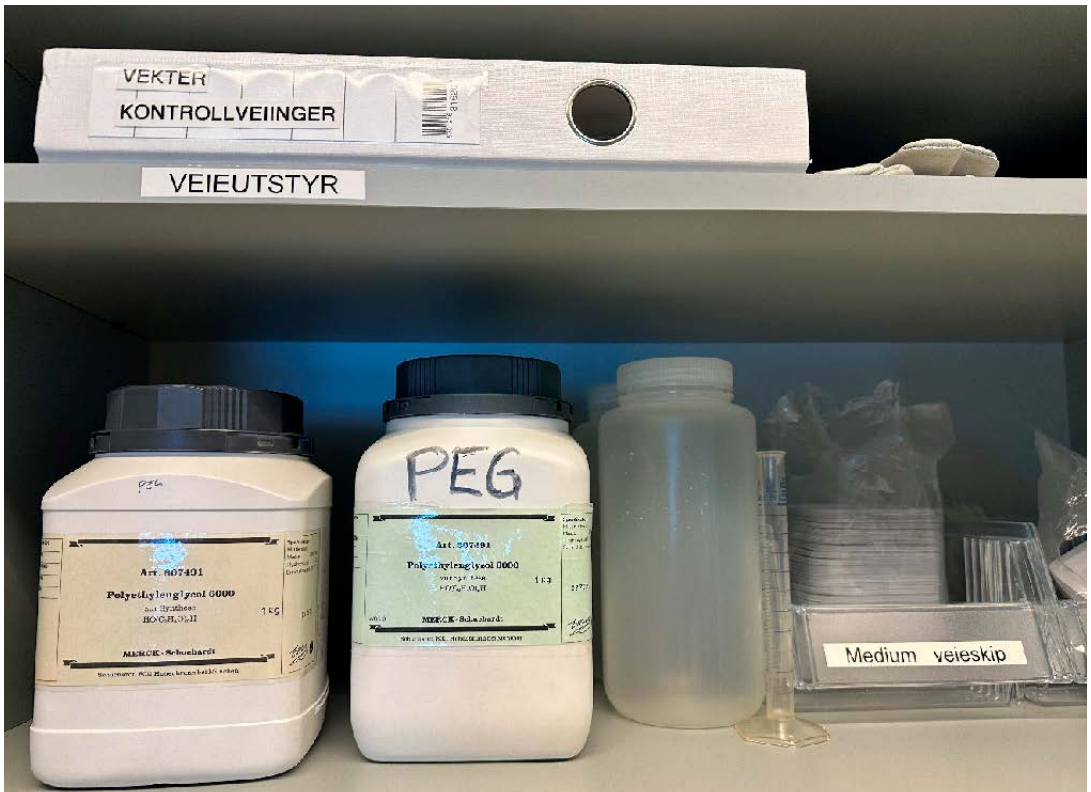
Det vanligaste är att man använder Polyetylenglykol (PEG) fällning: PEG är en polymer som kan användas för att fälla ut proteiner, inklusive heterofila antikroppar. Genom att tillsätta en koncentrerad lösning av PEG till provet kan de icke-specifika antikropparna fällas ut och avlägsnas genom centrifugering. Detta skapar ett supernatant som innehåller biomarkören utan störande heterofila antikroppar. Det finns en hel del olika PEG varianter som har olika molekylvikter. Oftast använder vi för det här ändamålet något som tidigare hette PEG 6000. 6000 är då medelmolekylvikten. För att göra livet lite mer komplicerat för oss så har leverantörerna bytt beteck-

ning så att det som hette PEG 6000 före år 2000 heter numera PEG 8000 även om det är samma sak. Ibland använder vi på lab också PEG med högre molekylvikt som tex PEG 35000. Den PEG formen har så stora molekyler att den inte går igenom vanlig dialysslang. Det utnyttjades förr för att koncentrera uriner. Man hällde urinen i en dialysslang med porstorlek runt 3000 Da. Sedan lade man dialysslangen i en låda och strödde torr PEG 35000 över slangen. Det ledde till att vattnet i urinen osmotiskt drogs ur slangen och man fick en koncentring av proteinerna i urinen. Hade man 100 mL urin i slangen så kunde man koncentrera ner det till enstaka mL. Dessa koncentrat kunde sedan användas för analys av urinproteiner.

Immunglobuliner av IgG typ fälls ut i intervallet 3-10% PEG 6000. Det innebär att om vi tillsätter lika volym 20% PEG 6000 till ett prov så får vi en slutkoncentration på 10% vilket kommer fälla ut antikropparna i provet. Eftersom IgG, IgA, IgD och IgE har relativt lika molekylvikter så kommer vi fälla dessa

vid ungefär samma PEG koncentrationer. IgM som är större fälls dock tidigare. Det gör att vi med 10% PEG blir av med antikropparna oavsett klass. Sedan kan man gå upp lite i PEG koncentration om man vill ha lite mer marginal och då kanske vi hamnar på 12% slutkoncentration.

Fördelar med PEG är att det är snabbt. Fällningen sker inom någon minut. PEG är också förhållandevis billigt då den görs på raffinaderi från olja. Vi använde PEG för att koncentrera antikroppar och ville köpa lite större volymer än 1-5 kg burkar, så vi kontaktade några firmor. Vi blev lite förvånade när de sade att de tyvärr inte kunde leverera 10-50 kg förpackningar utan den nästa storleken som de kunde erbjuda var järnvägsvagn (!). Vi såg framför oss en bild då vi rullade in en järnvägsvagn med PEG 6000 på lab och försökte ställa "förpackningen" någonstans. Det hade räckt en hel livstid, men vi tackade så mycket och konstaterade att vi nog höll oss till de vanliga förpackningsstorlekarna. PEG används en hel del



som konsistensgivare i tex färg och en del livsmedel, vilket förklarade de större förpackningsstorlekarna.

PEG är en inert molekyl som i regel inte påverkar våra analysmetoder. Det som möjligtvis kan ske är att PEG tillsatsen kan i viss mån förstärka antigen-antikropsreaktionen. Det finns beskrivningar av tillsats av 3-4% PEG för att förstärka signalen i ELISA och immunoblotting. Bakgrunden är sannolikt att PEG bildar ett nätverk som tränger ut stora molekyler och då får vi en utträngning av antigen-antikropskomplexet som är större än de fria antikropparna, vilket ökar inbindningen till ELISA-plattan eller nitrocellulosamembranet.

Nackdelen med PEG är att fällningen inte är antikropspecifik utan faller utifrån molekyelstorlek. Om vi tex jämför T3, T4 och TSH så är koncentrationsförändringen av T3 och T4 liten efter fällning. IgG väger ca 150.000 Dalton medan T3 väger 651 Da, T4 777 kDa och TSH 30000 Da. Ofta så medfaller vi kanske 10% av T3 och T4 men 75% av TSH. Ju

större proteinet är desto svårare är det att använda PEG eftersom större proteiner faller tillsammans med antikropparna.

För större proteiner bör man istället välja någon annan metodik för att ta bort antikropparna utan att samtidigt ta bort det protein som man vill mäta.

Kromatografi

En möjlighet är att använda sig av kromatografi. Eftersom IgG har en varierande laddning så är det i regel svårt att använda jonbyteskromatografi för separationen. Laddningsvariationen hos immunglobulinerna syns tex då man gör proteinelektrofores på agarosgel. Den varierande laddningen gör att IgG finns i ett ganska brett område på agarosgelen. För att kunna separera immunglobulinerna från antigenet krävs att det är en stor laddningsskillnad vilket gör att tekniken har ett begränsad användningsområde. Ett alternativ är att använda sig av geler som selektivt binder immunglobuliner som tex T (thiophilic)-gel,



Foto: Henrik Alfthan.

protein A- och protein G-kolonner. Nackdelen med T-gelen är att proverna appliceras i närvaro av relativt höga kaliumsulfat koncentrationer. Även om antikropparna elueras med låg saltkoncentration så är det risk att vi får med en del kaliumsulfat som kan störa analysen. Protein A är ett ytprotein på gula Stafylokocker som specifikt binder IgG. Protein A har en god bindningsförmåga till IgG subklasserna 1, 2 och 4, medan bindningen är något sämre för IgG3, IgA och IgM. Antikropparna binder sig till kolonnen inom ett brett pH intervall och man kan om man så önskar sedan eluera ut antikropparna genom att sänka pH till 3,0 eller lägre (tex med 0,1 M glycin pH 3,0). Genom att de humana antikropparna fastnar på kolonnen och övriga proteiner passerar igenom så får man en bra separation och blir av med de störande antikropparna. Nackdelen är att kromatografi kräver en del arbete och tid och man får en utspädning av provet. Protein G är ett ytprotein från Streptokocker typ G och har i likhet med protein A en förmåga att selektivt binda immunglobuliner från däggdjur. Man skulle också kunna tänka sig att använda en kolonn med protein G för att fånga upp de heterofila antikropparna. Så vitt jag vet så används den varianten inte i någon större omfattning utan den vanligaste tekniken är att använda protein A kolonner.

Protein A geler

Kromatografi är ofta arbetskrävande även om man använder sig av väldigt enkla kromatografisystem. Vi har därför provat att ersätta kromatografin med protein A geler som går att fånga upp magnetiskt. Dessa partiklar har en kärna av järn som sedan täckts med polymer (tex Dextran) som man sedan kopplat protein A till. Fördelen med ett sådant system är att man kan ta en liten spatel med protein A-gelen och tillsätta till patientprovet i ett Ellermanrör. Man blandar om provet med gelen i Ellermanröret och sätter sedan en magnet mot rörsidan. Då dras protein A partiklarna till magneten och man kan föra över plasman/serumet till ett nytt rör. Det går betydligt snabbare än att använda sig av kromatografisk separation och provutspädningen blir mindre. Vi har gjort så att vi mätt albumin och det specifika proteinet (tex ASAT) före och efter protein A behandlingen och räknat ut kvoten för specifikt protein/albumin. Innehöll provet heterofila antikroppar så får man en sänkning av kvoten efter protein A behandlingen, men utan heterofila antikroppar blir kvoten densamma. Att använda sig

av kvoten är enbart för att justera för ev utspädning pga gelen. Efter att provet tagits om hand tillsätter vi 0,1 M glycin pH 2,5-3,0 och tvättar protein A gelen så vi får bort de bundna antikropparna. Sedan neutraliserar gelen med PBS och man kan använda den igen.

Adsorption med blockerande ämnen

Man kan även använda sig av adsorption med blockerande ämnen: Denna metod innebär att man tillsätter ett blockerande ämne till provet som kan binda till heterofila antikroppar och därigenom blockera deras bindning till antigenet. Vanliga blockerande ämnen inkluderar bovint serumalbumin (BSA), gelatin eller icke-specifika IgG-antikroppar. Genom att tillsätta dessa ämnen kan de heterofila antikropparna adsorberas och vid behov avlägsnas från provet genom centrifugering eller filtrering.

Det är viktigt att notera att valet av metod beror på experimentella behov, provtyp och önskade analyser. Varje metod har sina egna fördelar och begränsningar. Sedan kanske det räcker med att informera beställaren om att provet innehåller heterofila antikroppar och att man därför inte kan lita på analysresultatet utan kanske välja en alternativ analys.

I Uppsala använder vi oss i regel av PEG fällning för mer etablerade analyser som utredning av ev heterofila antikroppar mot thyroideaanalyser. Protein A geler har vi använt när vi fått frågor om ev heterofila antikroppar mot ovanligare proteiner.

Gelfiltrering

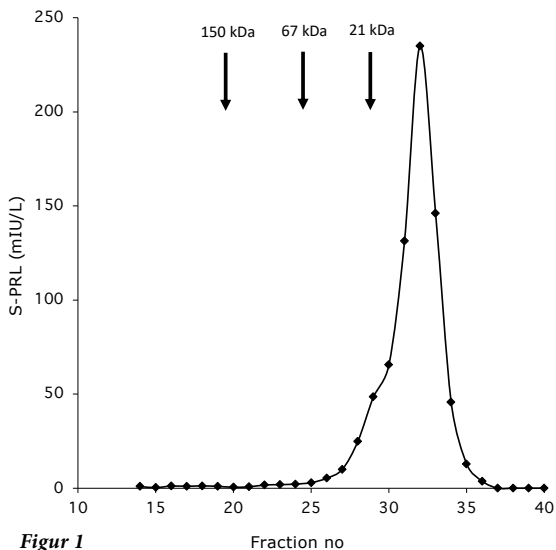
Gelfiltrering är sannolikt ”gold standard metod” för att analysera förekomst av antikropp-antigen komplex i patientprovet. Nackdelen är att den är arbetsintensiv och ofta kräver ett flertal analyser från olika delar av kromatogrammet.

En gelfiltrering bygger på att molekyler större än porstorleken i gelpartiklarna kommer att passera förbi partiklarna medan små partiklar kommer obehindrat migrera genom partiklarna. Det innebär att stora partiklar kommer att komma ut först från kolonnen och de små molekylerna senare. Antikroppar har en molekylvikt runt 150 000 Da och de analyter som vi är intresserade av i regel lägre molekylvikter. Immunkomplexet består av minst en antigensmolekyl och en antikropp, men ofta kan det vara fler molekyler i komplexet. Det innebär att vi vill använda oss av en gelmatris som framförallt separerar molekyler som är mindre än 150 000 Da. Vi

väljer därför en kolonn där molekylvikter på 150 000 Da och större går i fronten på kromatografin. Fronten benämns oftast för V_0 och brukar komma efter ca en tredjedel av den totala kolonnvolymen. Sedan vill vi att den fria formen av analyten kommer så sent som möjligt och helst vid det som kallas för V_T , som är lika med den totala kolonnvolymen. Ju närmare molekylvikten på analyten är i förhållande till storleken på immunkomplexet, desto svårare blir det att skilja de två topparna åt och desto större kolonn krävs för att få en tillräcklig bra separation.

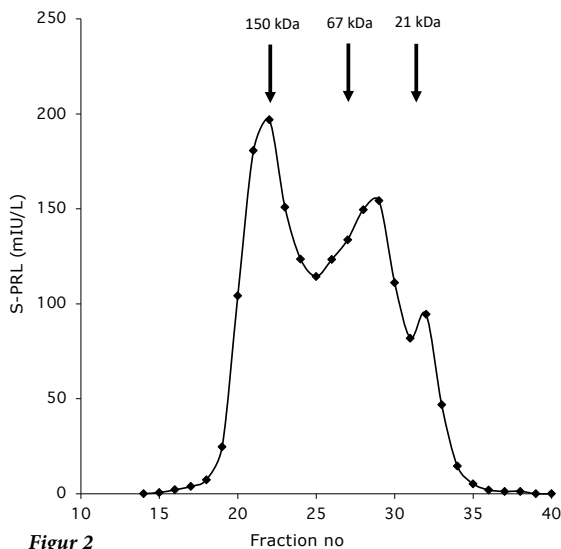
Ett typexempel på användning av gelfiltrering är för utredning av patienter med misstänkt makroprolaktinemi. Fritt prolaktin har en molekylvikt på ca 23 kDa vilket gör att molekylen snabbt filtreras i glomeruli i motsats till makroformerna som inte passerar ut i urinen och halveringstiden blir därför mycket längre. Effekten av detta är att plasmanivåerna stiger. Nedan kommer ett exempel på gelfiltrering av prover med makroprolaktinemi från Henrik's lab. De använde sig av en gel som heter Superdex 200. Utifrån namnet på gelen kan man dra slutsatsen att den är uppbyggd av dextran och att molekyler runt 200 kDa kommer hamna i V_0 och gelen separerar i intervallet under 200 kDa.

Först kommer ett kromatogram som visar en separation av prolaktin utan makroformer (Fig 1). Toppen som ses i kromatogrammet stämmer överens med en molekylvikt på drygt 20 kDa.



Figur 1

Sedan kommer ett kromatogram som visar en separation av prolaktin med makroformer (Fig 2). Toppen som ses i kromatogrammet stämmer överens med en molekylvikt betydligt högre än den fria formen av prolaktin.

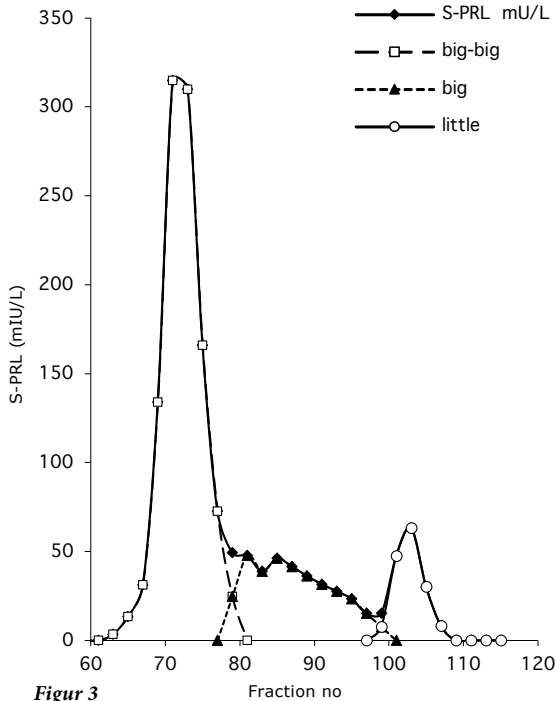


Figur 2



Foto: Henrik Alfthan.

Vi visar också ett kromatogram som visar en separation av prolaktin med mycket stora makroformer (Fig 3). OBS detta prov kördes på en annan kolonn vilket gör att fraktionsnumren skiljer sig från föregående figurer.



Figur 3

Utifrån prolaktinvärdena i de olika fraktionerna kan man beräkna andelen fritt prolaktin och olika typer av makroprolaktinemi.

Sammanfattningsvis så kan man konstatera att det finns flera olika metoder för att utreda förekomst av interfererande antikroppar. De olika metoderna har sina för- och nack-delar och valet beror i stor utsträckning på vilka resurser vi har på det lokala laboratoriet. Enklast är ofta att analysera provet i en spädningsserie och jämföra resultaten med i de olika spädningarna. Det går i regel snabbt och det går att hantera inom den berörda sektionen på laboratoriet. Det fungerar också på de flesta metoder förutom tex fT3 och fT4 där spädningar kan påverka förhållandet mellan fritt och bundet hormon. Det som också är förhållandevis enkelt är att ringa en kollega och höra om de kan analysera provet på deras instrumentplattform under förutsättningen att de har en annan instrument/reagenskombination. Tillsats av extra immunglobuliner i form av serum är också relativt lätt att utföra men bygger på att man har serumprover från tex kanin och mus i frysen på lab. Serumprover för detta ändamål håller många år (årtionden) så man kan samla på sig serum och ha dem tillgängliga när frågan uppstår. PEG fällningar och kromatografiska metoder är mer arbetsintensiva och kräver mer utrustning vilket gör att det kanske i första hand är lämpade för forskningslaboratorier.



Foto: Henrik Alfthan.

Reflextestning

– En metod för att minska ”onödig” testning

Anders Larsson¹, Helle B. Hager²

¹Klinisk Kemi och Farmakologi, Akademiska sjukhuset, Uppsala

²Sentrallaboratoriet, Sykehuset i Vestfold, Tønsberg

anders.larsson@akademiska.se

I många fall börjar våra beställare med ett smalare analysassortiment då de beställer prover. Ett exempel kan vara att man mäter B-Hb på vårdcentralen och om patienten har anemi så vill man gå vidare med utredning av anemin. Då kan det tex bli aktuellt med ett blodstatus för att undersöka MCV och kanske i nästa omgång ett P-ferritin. Själva analyskostnaden för tilläggsanalyserna är ofta låg i förhållande till övriga kostnader. Om vi antar att det B-Hb tas vid ett första besök, blodstatus vid ett andra och ferritin vid ett tredje, så innebär det för patienten tre resor för provtagning och förlorad arbetsinkomst vid tre tillfällen. För vårdcentralen innebär det tre provtagningar och troligen att doktorn får kontakta patienten via telefon vid tre tillfällen. De kostnaderna blir mycket högre än analyskostnaden, men även för

laboratoriet är det enklare att få färre prover. Hb och blodstatus går på samma rör, dvs hellre att Hb och MCH/MCV körs tillsammans. Att bara köra Hb vid första tillfället är inte särskilt effektivt, och det är den främsta orsaken till att vi i Uppland, i likhet med flera andra landsting, satt ut små cellräknare på de större vårdcentralerna. Vi uppfattar det som mer kostnadseffektivt att köra blodstatuset på en gång istället för att köra Hb separat. Problemet är att även de små cellräknarna kräver en hel del omvårdnad, så vi har dessa instrument enbart på de vårdcentraler som har biomedicinska analytiker.

Den skandinaviska traditionen har oftast varit att köra analyser selektivt istället för att köra breda analyspaket. Det enda undantaget som jag känner till var nog kem lab i Östersund som när de skaffade en AutoChemist (kemianalysator) under senare delen av 60-talet bestämde laboratorieansvarig läkare att man skulle köra allting på alla prover. I folkmun så kallades det för ”stora blodprovet”. Det innebar att på alla prover som analyserades på kemianalysatorn så kördes det ca 24 analyser. När analyserna var klara skickades det ut tre klisterremsor för varje prov och så klistrade svarsmottagaren in dessa remsor i laboratorielistan. När nästa prov analyserades så kom det nya klisterremsor som man satt under den tidigare remsan, så man kunde jämföra resultaten över tid.

AutoChemisten byggde på en apparatidé av Gunnar och Ingmar Jungner. Apparaten utförde automatiskt 24 fotometriska analyser på 135 patientprover per timme, vilket motsvarade vad 100 personer klarade manuellt. De första maskinerna var stora, och när Östersund skaffade AutoChemisten så var man tvungen att bygga ett särskilt hus för att få plats med apparaten. Man hade hinkar för att fylla på reagens och man fick klättra upp på maskinen för att fylla på reagens. Man använde 10-mL rör för att få tillräckliga provvolymmer. Det vill säga en helt annan teknik än dagens kemianalysatorer.



Automation möjliggör reflexanalys. Foto: Ole Halftan Larsen.

Senare utvecklade AGA innovation också en mindre variant som hette Prisma.

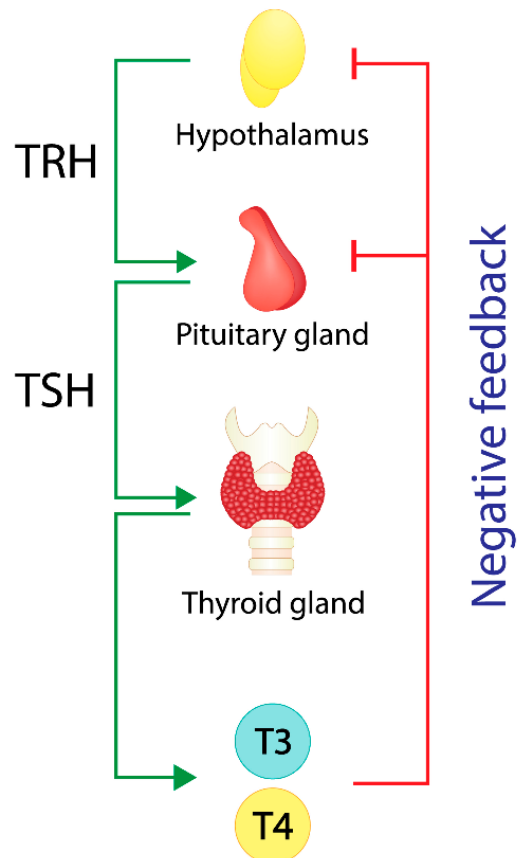
Som svarsmottagare av de tre klistreremorna lärde man sig efter ett tag att inte titta på resultaten om man inte var särskilt intresserad av en viss analys. Glukos var ju tex i regel inte faste prover, dvs de var oftast höga. På den tiden hade patienten inte tillgång till journalen vilket gjorde att man lättare kunde bortse från avvikande resultat. I dag med elektroniska journaler skulle det sannolikt leda till en massa frågor från patienterna. Svaramottagarna lärde sig alltså med tiden att bortse från analysresultat. Man lärde sig också att använda sig av bredare analyspaket. När Mirja Mindemark tittade på beställningsmönster i sin avhandling så noterade hon att Jämtland fortfarande på 2000-talet hade mycket bredare analyspaket i primärvården än andra landsting! Detta, trots att de breda analyspaketen avskaffades i Jämtland 25 år tidigare, och de husläkare och laboratoriepersonal som var med om detta var sedan länge pensionerade. De nya läkare som började arbeta i Jämtland ärvde dock tankesättet.

Breda analyspaket är alltså inte optimalt, men även selektiva beställningar har sina nackdelar. Kanske framförallt extra provtagningar (och därmed forsenad diagnostik) och fler rör att hantera på laboratoriet.

I dag har de flesta sjukhuslaboratorier bansystem med instrumenten kopplade till banan och i regel ett kylskåp där proverna förvaras en tid efter analys. Sådana bansystem öppnar helt nya möjligheter till efterbeställningar/kompletterande analyser. Genom att vi har olika instrument på banorna så har vi en stor frihet att kombinera olika analyser på samma rör.

Ett exempel på detta skulle kunna vara TSH. Husläkarna i Uppland använder TSH för screening av i första hand hypothyreos. Eftersom hypothyreos ofta är en smygande sjukdom så är rekommendationen att man på ganska breda indikationer analyserar TSH var 3–5 år om patienten är över 45 år. Då kör man TSH som singelanalys. Man kan grovt säga att är $TSH < 2$ mIE/L så är det ingen hypothyreos och är $TSH > 10$ mIE/L så är det en klar hypothyreos. Är TSH värdet någonstans i intervallet 3–10 mIE/L så bör man komplettera analysen med anti-TPO. Om patienten har anti-TPO antikroppar så bör hen få Levaxin. Här skulle man vilja använda reflextestning så att om man väljer en typ av TSH beställning så skall TSH värden på 3–10 automatiskt generera en tilläggsanalys av

anti-TPO. Samtidigt så har vi en stor grupp patienter som står på Levaxin-behandling och i det fallet så ger inte anti-TPO något tilläggsvärde. Det skulle innebära att vi vill ha två alternativ på TSH-beställningar; en där man bara kör TSH (vid känd hypothyreos) och en där man automatiskt lägger till anti-TPO enligt fördefinierade värden för TSH. Sedan är det upp till beställaren att välja viken beställningsvariant som är mest lämpad för patienten. Eftersom detta sköts av laboratorieinformationssystemet så hämtas rören automatiskt från postsorteren, skickas ut på banan och analyseras. Reflextestet kommer att ta lite längre tid, men fortfarande så innebär det en tilläggstid för reflextestet på ca 15 min, vilket är helt överkomligt. Eftersom reflextestningen sker automatiskt så innebär det inget merarbete för den instrumentansvarige. Det som möjligen kan vara lite knepigt är att lösa matchningsrutinerna ifall instrumentet inte lyckas generera den automatiska kompletteringsanalysen.



Vi är dock inte värre ute än om vi inte alls använder oss av reflextestningen.

Något som gränsar till reflextestning är möjligheten att använda postsorterare i kombination med bankopplade instrument för kompletterande beställningar under förutsättning att beställarna automatiskt kan göra efterbeställningar. Teoretiskt skulle man kunna tänka sig att när en patient kommer in på akutmottagningen så tas det ett EDTA rör för blodstatus, ett litiumheparinrör och ett citratrör. Rören skickas upp till lab, får gå upp på banan och de analyser som är beställda utförs, varefter rören placeras i postsorteraren. Då skulle akutmottagningen kunna titta på resultaten i första omgången och göra kompletteringar under ett antal timmar. Det händer ju en hel del under de första timmarna som patienten är på akuten så man kanske får begränsa ”rörens livslängd” till 2–4 tim. Ett exempel på detta är om akuten bestämmer att de behöver göra en röntgenundersökning med kontrast så kräver röntgenavdelningen ett kreatinivärde/eGFR värde och ev ett negativt gravitetstest. Då skulle man kunna använda rören i postsorteraren och lägga till en kreatinin/cystatin C analys och ha svaret mycket snabbare än om man behöver ta ett nytt prov, skicka det till lab, centrifugera provet och analyser det. Man skulle tom kunna tänka sig att skicka upp prover från akuten utan beställningar som

då går in i postsorteraren och sedan är tillgängliga för snabb analys. Utvecklingen med banor och lagring av prover efter analys ger helt nya möjligheter som vi inte använder till dess fulla potential. Det kan mycket väl krävas mer dialoger med beställare och anpassning av laboratorieinformationssystemen för att underlätta utnyttjandet, men det bör vara något som vi kommer använda mer och mer.

På kortare sikt så bör reflextestning vara lättare att genomföra än ovanstående resonemang kring akutmottagningsprover. För ett par år sedan publicerade Region Östergötland en artikel i Läkartidningen om reflextestning (1).

Region Östergötland rapporterade där resultat för två nya reflexanalyser i Östergötland:

TSH-reflextest

Vid ett TSH-värde inom referensintervallet tillförs analys av fT4/fT3 i många fall inget ytterligare i diagnostiken. Primärvårdsläkaren har möjlighet att välja mellan att beställa TSH eller TSH-reflexanalys. Primärvården fick då möjlighet att beställa TSH eller TSH-reflexanalys som i Östergötlands fall kunde innebära fT4/fT3, anti-TPO eller TRAK beroende på TSH resultatet. Den automatiserade TSH-reflexanalysen var i första hand avsedd för primärvården där man önskar utesluta sköldkörtelsjukdom hos patienter över 10 års ålder, icke-gravida, ej kända för hypofyssjukdom och ej behandlade med Levaxin. Syftet med TSH-reflexanalyser var att undvika onödiga fT4- och fT3-analyser. Här går det helt klart att diskutera vilka analyser som skall ingå i reflextestet. När behövs tex fT3?

Kobalamin–MMA-reflexanalys

Analys av kobalamin (vitamin B₁₂), som används för vitamin B₁₂-bristutredning, är ofta svårtolkat framförallt i gränsområdet 150–250 pmol/l. Eftersom resultaten i det området är svårtolkade så skulle man vilja komplettera med automatisk reflextestning med metylmalonat (MMA), vars prestanda är avsevärt bättre, men där analyskostnaderna blir högre. Region Östergötland hade där som mål att få en närmast 100-procentig reflextestning med MMA för att säkerställa B12-bristen. Primärvården hade dock kvar möjligheten att beställa enbart B12 utan reflextestning. Här kan man ju också diskutera om man skall använda sig av MMA alternativt homocystein som reflextestningsmarkör. Sannolikt beror det på lokala preferenser.

ENDOKRINOLOGI

- 1 TSH refleks (screening tyreoideasykdom)^B
- 1 TSH
- 1 Fritt tyroksin (fT4)
- 1 Fritt trijodtyronin (fT3)
- 1 Anti-TPO
- 1 TRAS

Urklipp från papperrevisitionen till Sentrallaboratoriet, Sykehuset i Vestfold. B står för ”se information på baksiden”, där följande text finns: TSH-refleks: Utredning ved ikke kjent tyreoideasykdom. Relevante tyreoideaprover etterbestilles automatisk ved TSH utenfor referanseintervallet.

Införandet av Kobalamin-MMA-reflexanalys skedde något före TSH-reflexanalysen. För Kobalamin-MMA-reflexanalysen använde man sig av sedvanlig introduktion via laboratoriets nyhetsblad vilket är en mer traditionell metodik. För TSH-reflex-testningen använde man sig istället av en mer aktiv form som inkluderade uppföljningar under införande-perioden och ett mål att 50% av TSH beställningarna skulle vara i form av TSH-reflextest.

Inom Region Östergötland finns 43 vårdcentraler. Beställningarna av reflexanalyserna följdes upp månadsvis på vårdcentralnivå. För uppföljningen användes laboratoriets informationssystem (FLEX-lab). För TSH-reflex-testningen gavs feedback till vårdcentralerna vid 2 tillfällen, efter 1 vecka respektive 2 månader. Laboratoriet noterade att det gick snabbare att implementera TSH-reflex-testningen än Kobalamin-reflex-testningen. Målvärdet för TSH-reflex-testningen uppnåddes ca ett halvt år efter införandet medan målet för Kobalamin-reflex-testningen inte uppnåtts efter ett och ett halvt år. Variationen i användningen av reflex-testningen mellan vårdcentralerna var också mindre för TSH-reflex-testningen.

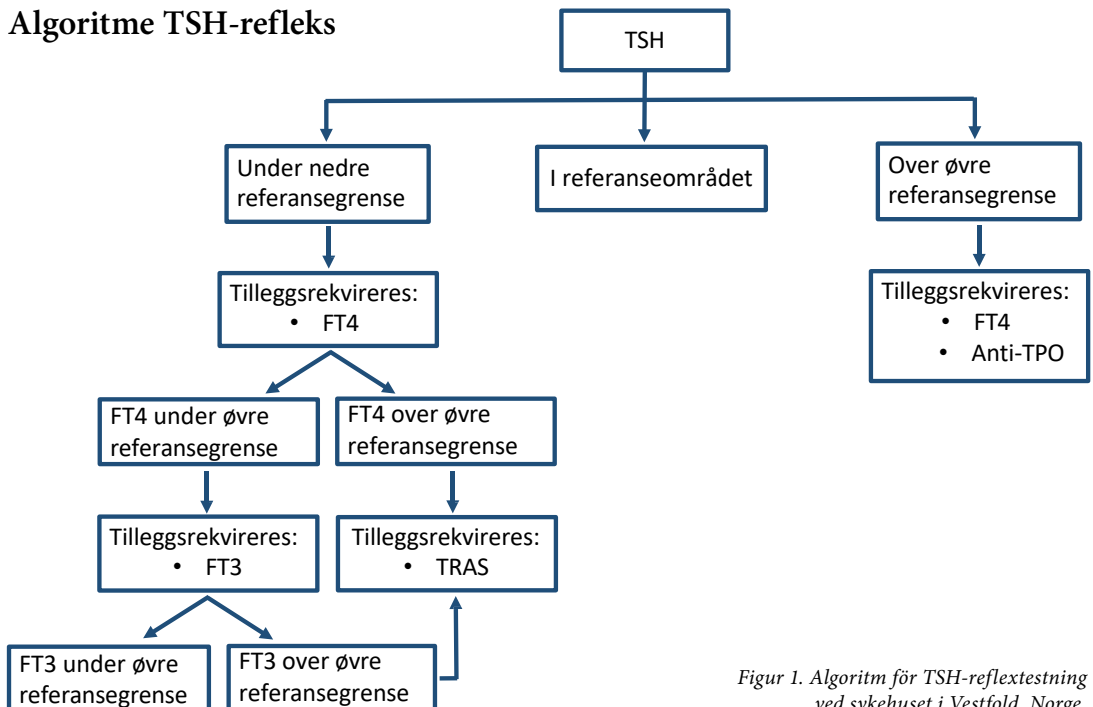
Syftet med studien var att utvärdera effekterna

av strategier för införande av reflex-testning och laboratoriets slutsats var bland annat att ett aktivt införande var att föredra. Resultaten visade att ett aktivt införande med relativt små medel gav ett bra resultat. Laboratoriet föreslog också att man skulle kunna använda sig av svarscommentarer/information i laboratoriedatasystemet av typ:

”Du vill beställa kobalamin-analys. Beställning av kobalamin-reflex-MMA ger en säkrare bedömning av eventuell B₁₂-brist”. Det skulle sannolikt påskynda införandet och öka användningen av reflex-testningen.

Sentrallaboratoriet ved Sykehuset i Vestfold, Norge införde TSH-reflex-testning inspirerade av modellen från Östergötland, för beställare från primärvården 1 november 2019, dvs för ungefär 4 år sedan. Syftet var i första hand att minska andelen onödiga fT4 men även fT3 i förhållande till antalet TSH analyser, i linje med ”Gjør kloke valg”-kampanjen til den norska läkarför-eningen (2), motsvarande til Choosing Wisely. Man använde sig av en algoritm för TSH-reflex-testning där värden ovanför övre referensgränsen genererade tilläggsbeställningar av fT4 och anti-TPO, TSH inom referensintervallet medförde inga tilläggsbeställ-

Algoritme TSH-refleks



Figur 1. Algoritme för TSH-reflex-testning ved sykehuset i Vestfold, Norge.

ningar och TSH under referensintervallet genererade fT4 beställning. Sedan gav lågt TSH och avvikande fT4 ytterligare tilläggsbeställningar. Se Figur 1.

Införandet av TSH-reflextestning under av slutet av 2019 kunde inte förväntas ha så stor effekt på beställningsmönstret under 2019, men redan 2020 noterade man en klar minskning av antalet fT4 analyser (Figur 2). Ration fT4/TSH minskade från ca 0,82 (2017) till 0,41 (2022), dvs en halvering av fT4 analyserna. Samtidigt så medförde det en viss reduktion av fT3 och en mindre ökning av anti-TPO och thyroideareceptorantikroppar (TRAK/TRAS). Tittar man på de ekonomiska effekterna så beräknades besparingen av minskade fT4 analyser motsvara ca NOK 2,3 miljoner. Extrapolerar man dessa siffror till hela Norge så skulle det motsvara ca 50 miljoner norska kronor i besparing. Med tanke på befolkningsunderlagen i Danmark, Finland och Norge är ungefär lika stora så borde det innebära en besparingspotential på ca 50 milj kr per år i Danmark och Finland och ca 100 milj kronor i Sverige. Totalt ca en kvarts miljard för hela Norden!

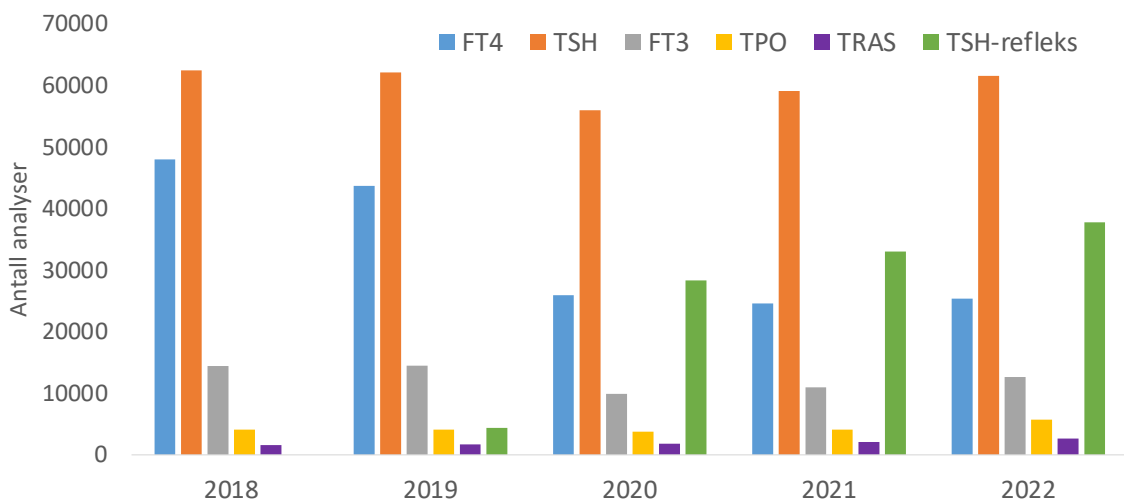
Sannolikt finns det nog ytterligare lite potential över tid med TSH-reflextestning då det ofta finns en tröghet i sjukvårdssystemen. Om vi tar exemplet troponin så var alla tidigt överens om att troponin var

en markör som var en mycket bättre hjärtmarkör än ASAT. Trots detta så levde ASAT kvar under årtionden som en del i utredningen av misstänkta hjärtinfarkter. Det tar tid att ändra provtagningsmönster! Samtidigt kan man ju konstatera att redan inom ett år hade man i Vestfold fått en kraftig förändring. Utöver de direkta laboratoriebesparingarna så kommer minskade extraprovtagningar orsakade av det första analysresultatet, vilket spar resor och frånvaro från arbetet för patienten. Även detta är en betydande besparing även om den är mer svårberäknad.

Referencer

1. Schedvin G, Omran A. Automatiserad reflexanalys måste införas på rätt sätt. Läkartidningen 2019;116.
2. Gjør kloke valg. Den norske legeforening. <https://www.legeforeningen.no/kloke-valg/tilhelsepersonell/legeforeningens-anbefalinger/norsk-forening-for-medisinsk-biokjemi/ikke-bestill-analyse-av-fritt-t3-og-fritt-t4-rutine-messig-ved-oppfolging-av-pasienter-med-primar-hypotyreose.-tsh-er-tilstrekkelig-i-de-fleste-tilfeller/>

Tyreoida-analyser bestilt fra primærhelsetjenesten 2018-2022



Figur 2. Påverkan av beställningsmönster för olika tyreoidemarkörer efter införande av TSH-reflextestning i primärvården ved sykehuset i Vestfold, Norge.



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*

cobas pulse

*A system for measurement of glucose
manufactured by Roche Diagnostics GmbH*

Background

Last year, SKUP carried out an evaluation of **cobas pulse** at the request of Roche Diagnostics in Norway and Denmark. The measuring system produced by Roche Diagnostics GmbH was first launched in Denmark in 2022, then in Sweden and Norway in 2023. The SKUP evaluation was carried out from April to June 2023.

The **cobas pulse** is a hand-held instrument (figure 1), intended for blood glucose monitoring by health care professionals when blood glucose levels are measured near the patient. The sample material is fresh capillary blood, venous whole blood, arterial whole blood, neonatal heel prick, and neonatal arterial whole blood. The measuring range of **cobas pulse** is 0,6 – 33,0 mmol/L.

The aim of the evaluation

The aim of the evaluation was to assess the analytical performance and user-friendliness of **cobas pulse** by the intended users, which are health care personnel in the hospital as well as in primary health care. The evaluation was performed by both experienced laboratory personnel in a hospital laboratory and by health care personnel in two primary health care centres (PHCCs).

Materials and methods

At the hospital, fresh capillary whole blood samples from 100 participants, most with diabetes, were included. In the two PHCCs, a total of 117 participant samples were included. Capillary whole blood

Table 1. Repeatability (CV) of the cobas pulse for glucose measured in capillary samples. Results achieved by intended users in the hospital laboratory and in primary health care.

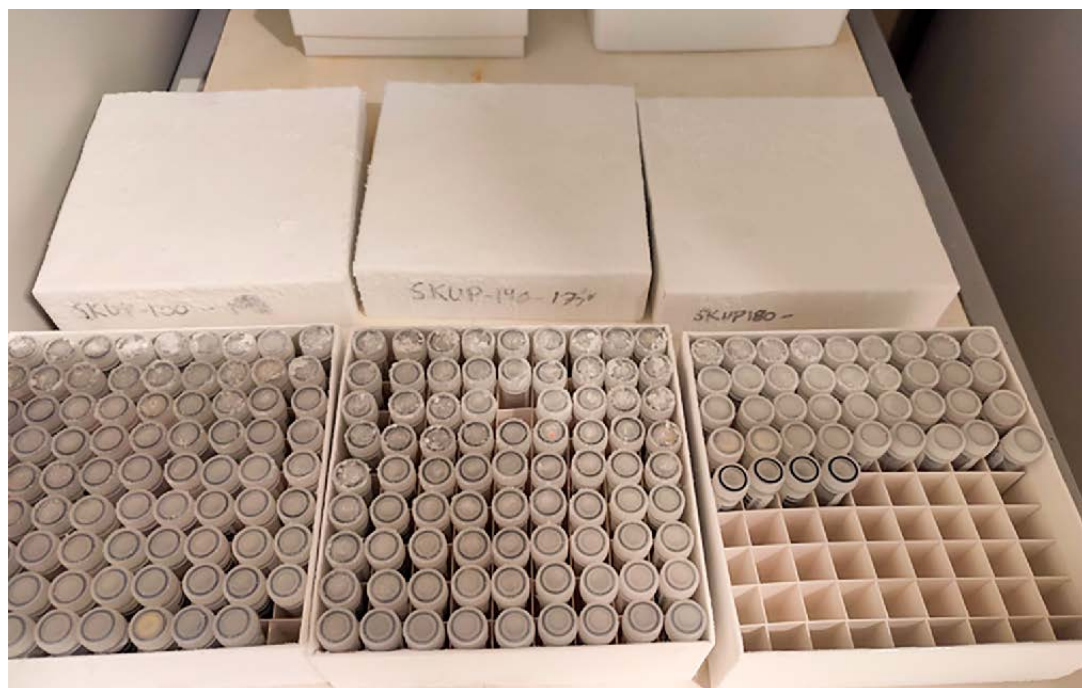
Place	Glucose level, mmol/L	n*	Excluded results (statistical outliers)	Mean value glucose, mmol/L	CV (90 % CI) %
Hospital laboratory	<7	30	2	6,1	2,0 (1,7 – 2,6)
	7 – 10	32	0	8,6	2,3 (1,9 – 2,9)
	>10	35	0	13,7	1,8 (1,5 – 2,2)
PHCC1 + PHCC2	<7	38	0	6,1	3,6 (3,0 – 4,4)
	7 – 10	46	0	8,2	3,1 (2,7 – 3,8)
	>10	33	0	12,5	4,0 (3,3 – 5,0)

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

samples both in the hospital and in the PHCCs were analysed in duplicate on the **cobas pulse**. Capillary plasma samples, collected from participants in the hospital laboratory, were analysed on a comparison method (Roche cobas 8000 c 702, Roche Diagnostics GmbH). Analysis of capillary plasma samples on the comparison method from participants in primary

health care were not possible as these samples had to be stored in a low-temperature freezer, which was not available in the PHCCs.

The analytical results and user-friendliness were assessed according to pre-set performance specifications. The analytical performance specification (APS) for precision was a repeatability (coefficient of



An image of the frozen capillary plasma samples collected from participants in the hospital laboratory before analysis on the comparison method.

variation, CV) $\leq 4,0\%$. For accuracy the APS was $\geq 95\%$ of the results should be within the allowable deviation of $\pm 0,83$ mmol/L at glucose concentration $< 5,55$ mmol/L and within $\pm 15\%$ at glucose concentration $\geq 5,55$ mmol/L (ISO 15197:2013). The user-friendliness was assessed using a questionnaire covering several topics with three given ratings; satisfactory, intermediate and unsatisfactory, and with the performance specification of a total rating of “satisfactory”.

Results

The CV achieved in the hospital laboratory was between 1,8 and 2,3 % depending on the concentration level. The PHCCs achieved a CV between 3,1 and 4,0 % (table 1). The results from the two PHCCs were merged before the calculation of CV, as the results, per concentration level, had overlapping CIs.

In the hospital laboratory, the bias between **cobas pulse** and the comparison method was statistically significantly higher at concentration level 7 – 10 mmol/L, with an average bias of 0,16 mmol/L.

For accuracy, 100 % of the results (94 out of 94) were within the allowable deviation limits when handled by intended users in the hospital laboratory (figure 2).

The user-friendliness was rated as satisfactory by both the laboratory personnel and the health care personnel.

Conclusion

The APS for the evaluation was fulfilled for both repeatability and accuracy by intended users in the hospital laboratory as well as in primary health care. The performance specification for user-friendliness was fulfilled.

The complete evaluation report and summaries published in Danish, Sweden and Norwegian are available at www.skup.org.

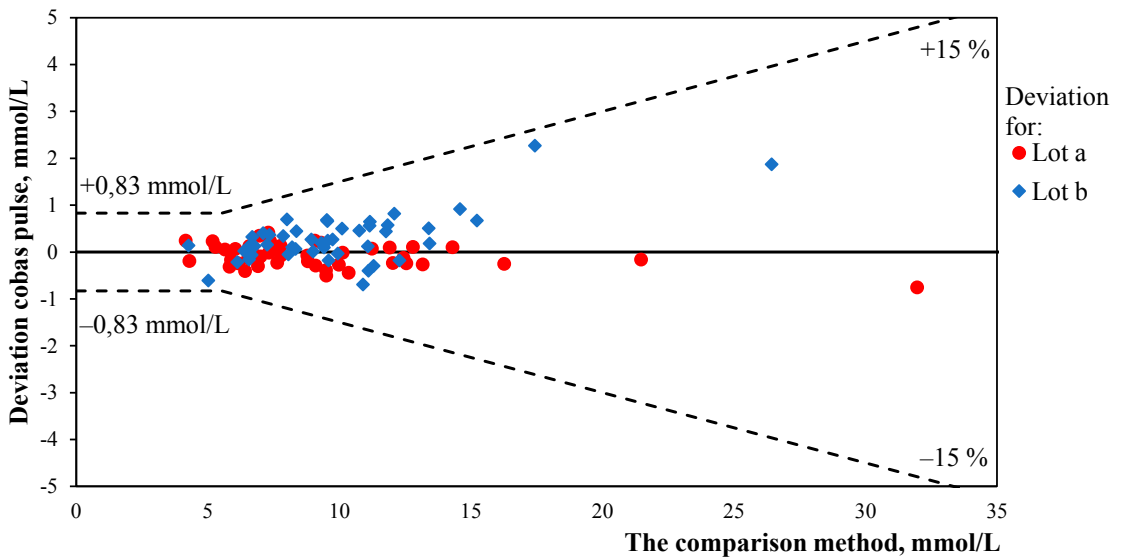


Figure 2. Accuracy of glucose results on cobas pulse achieved by intended users in the hospital laboratory. The x-axis represents the mean glucose result of the comparison method. The y-axis represents the glucose deviation in mmol/L of the first capillary measurement on cobas pulse from the mean result of the corresponding samples of the comparison method. The different lots of test strips are illustrated with the symbols (Lot a, 59560209), (Lot b, 70498503). Stippled lines represent the allowable deviation limits set in ISO 15197:2013 (within $\pm 0,83$ mmol/L of the results of the comparison method for glucose concentrations $< 5,55$ mmol/L and within $\pm 15\%$ for glucose concentrations $\geq 5,55$ mmol/L). The calculation of accuracy included measurement results from samples collected from 94 participants.

Var förvarar jag faeceshinken under Nobelmiddagen?

En ovanligt skitig historia

Anders Larsson

anders.larsson@akademiska.se

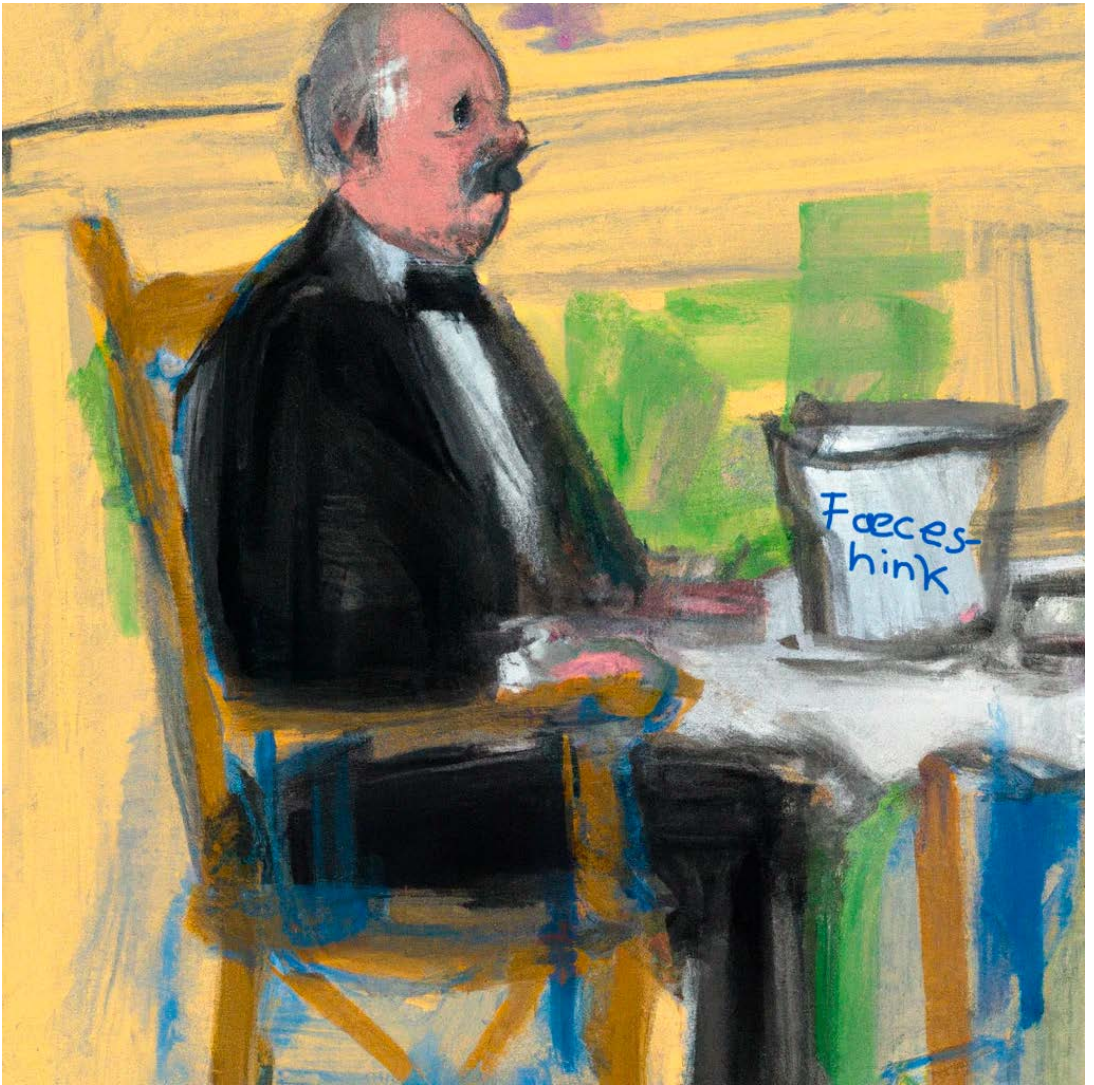
Vårt lab fick nyligen förfrågan om att sätta upp alfa-1-antitrypsin i faeces som markör för proteinläckage i tarmen. Enligt de internationella rekommendationerna skulle samlingen ske i form av dygnsmängd. Det väcker då frågan om hur man vet vad en dygnsmängd faeces är?

Vi har problem med dygnsinsamlingar urin där det är svårt att få ut budskapet att man tömmer urinblåsan vid tid 0 och kastar den urinen. Sedan samlar man urinen under 24 timmar och avslutar samlingsperioden med nytt besök på toaletten och den urinmängden tas med i urinsamlingen. När jag frågar läkarstudenterna hur man gör en korrekt samling enligt ovan, så är det ingen som vet hur man gör, vilket i sin tur innebär att patienten får en bristfällig information och mycket felsamlingar. Min nästa fråga till läkarstudenterna är om de skulle ta med den bruna urindunken till föreläsningarna, matbutiken osv. Det blir bara ett allmänt fnissande och ingen säger klart att de skulle ta med dunken. Om inte doktorerna vill göra det, vad är då chansen att patienterna kommer göra det? Sannolikhet 0 eller näst intill?

Samla urin är lätt jämfört med faeces. Det är lätt att säga åt patienten att samla ett dygn, men om vi tänker ur patientperspektivet, hur gör jag praktiskt? Skall jag använda samma princip som för urin och tömma tarmen vid tid 0 och därefter samla i 24 timmar? Många av oss har mindre än en avföring per dygn vilket innebär att det skulle bli en hel del 0-värden. Skall de rapporteras i datasystemet eller utgår de? Om jag tar med första faecesomgången har jag i praktiken börjat samlingsperioden långt tidigare. För att kunna använda den mängden måste jag uppskatta antalet timmar som den här mängden motsvarar. Vi har ju alla varit på toa ett antal gånger under livet så jag kan ställa en öppen fråga till er läsare. Senast ni

var på toaletten, hur många timmar motsvarade den faecesmängden, gärna med en decimal. När jag väl har gjort den beräkningen, så måste jag också på slutet gå på toa och ta med en del av den faecesmängden i hinken, men inte mer än vad som motsvarar 24 tim. Det innebär att jag får kika ner i hinken, och när jag bedömer att mängden är rätt så hoppar jag snabbt till toalettstolen och fortsätter att uträtta mina behov. Det är vad doktorn förväntar sig av mig. Hur många av oss kommer klara detta?

Som patient har jag ju en hel del följdfrågor. Jag får veta att alfa-1-antitrypsin i faeces inte är så stabilt. Hur gör jag då? Hinken är lite stor för att stoppa in i kylskåpet. Jag tror inte heller att övriga familjemedlemmar kommer bli så entusiastiska då de skall ta fram morgonfilen och hittar en stor faeceshink i kylskåpet. Det skulle kunna leda till en hel del förvecklingar. Vad tror ni om att stoppa hinken i svalen? Inte riktigt lika kallt, men bättre än rumstemperatur. Frysningen skulle väl också kunna vara ett alternativ, åtminstone i Norrland där man ofta har stora frysboxar (för att få plats med köttet från älgjakten). Även här kan man möta på invändningar från hustrun vad gäller det som stoppas ner i frysen. Vintertid kanske man kan ställa ut hinken på trappan utanför. Stöldrisken borde väl inte vara så väldigt stor, och i värsta fall får man väl be om en ny hink från sjukhuset. Sedan kommer ju funderingarna hur jag gör under arbetsdagen. Risken är ju att jag kan bli nödig under dagen, så jag måste ta med mig hinken till arbetet. Var förvarar jag den då? Under mitt skrivbord? Hinken är inte helt "dofffri" så jag riskerar nog att rumskamraterna kan protestera. Hänga den utanför fönstret på vintern? Sätta hinken i kylrummet tillsammans med våra laboratoriereagens? Risk för protester? Om jag nu går på Nobelmiddagen som i rubriken, hur gör jag då? Kan man gömma hinken under middagsbordet eller bör man lämna hinken i



Den här bilden skapades med hjälp av DALL-E 2.

garderober. Att ställa hinken bakom stolen är nog inte så bra för det finns risk att serveringspersonalen kommer att knuffa omkull hinken.

När jag väl har gjort dygnssamlingen och lämnat in den på sjukhuset så tar avdelningen ett litet prov från hinken och skickar den till laboratoriet. Avdelningen har ingen apparatur för att blanda dygnsmängden faeces om den är fast. Hur har de gjort tidigare praktiskt för att åstadkomma en homogen blandning? Skaka på burken lite grand ger ju inte mycket till homogenitet.

För mitt inre ser jag scenen från MacBeth där de tre

häxor står runt en kittel ute på heden och blandar om i kitteln med stora träspadar. Utser man på avdelningen en första skitblandare som förses med egen sked som gör all omblandning eller hur går det till? När jag nu lagt en massa jobb som patient på att se till att dygnssamlingen blev korrekt då förväntar jag mig också att avdelningen verkligen ser till att göra provet homogent. Om de enbart tar ett litet prov från en del av dygnsmängden så kanske det motsvarar 10 min samling av faeces. Varför skall jag då som patient samla dygnsmängden?



Lite bakgrund till proteinförlorande enteropati. Faeces alfa-1-antitrypsin användes som markör för proteinförluster via tarmen. Antalet patienter med kraftigt nedsatt hjärtfunktion ökar, vilket är en orsak till att antalet patienter med proteinförluster till tarmen också ökar. Man talar framförallt om patienter som behandlats med Fontanas operation pga så kallade enkammarhjärtan. Ett antal medfödda hjärtfel kan betraktas som funktionella "enkammarhjärtan" tex tricuspidalisatresi, pulmonalisatresi, och mitralisatresi. Dessa patienter kan behandlas med Fontanas operation för att förbättra livskvaliteten för patienten. Proteinförlorande enteropati (PFE) är en viktig orsak till sjuklighet och mortalitet efter Fontan-operationen och visar sig veckor till år efter operationen. Orsakerna är inte väl förstådda, men inkluderar sannolikt en kombination av lymfatisk insufficiens, högt centralt venöst tryck, förlust av heparansulfat från tarmepitelceller, onormal mesenterisk cirkulation och tarminflammation. PFE kan leda till att patienten behöver genomgå hjärttransplantation eller lymfatiska dekompensionsprocedurer. Trots förbättringen av detektions- och hanteringsalternativen är dödligheten fortfarande hög. Diagnosen av PFE baseras bland annat på plasma-albumin och faeces-alfa-1-antitrypsin.

Med tanke på hur besvärligt det är att samla dygnsmängder så kan man fundera över vad den internationella rekommendationen om analys av alfa-1-antitrypsin i faeces bygger på. Kan det vara så att doktorn som var studieansvarig ordinerar dygnsmängd men verkligheten blir stickprov? Det förefaller rimligt att anta att så är fallet. Dygnsmängdskravet finns dock kvar i de internationella vårdprogrammen och de spiller över på nationella vårdprogram utan att någon funderar över vad de innebär. Ur ett patientperspektiv skulle jag starkt vilja ifrågasätta kravet på dygnsmängd och även ur ett laboratorieperspektiv. Frågan är om vi kan övertyga våra kliniska kollegor om att bortse från de internationella rekommendationerna.

Nästa problem i sammanhanget är valet av Alfa-1-antitrypsin i faeces. Vi har ett generellt proteinläckage. Varför då välja just Alfa-1-antitrypsin. Borde inte vilket protein som helst fungera åtminstone om det är stabilt och har en molekylvikt runt 50.000-100.000 Da. Alfa-1-antitrypsin i faeces kräver någon form av extraktion och extraktionsbufferten innehåller detergenter. Vi vet från erfarenheter med F-calprotectin att de metoderna varierar med en faktor 3-4. Sverige kör ca 100 000 F-calprotectin per år och de metoderna är sannolikt betydligt mer standardiserade än hemsnickrade ELISA metoder för alfa-1-antitrypsin.

Alfa-1-antitrypsin i faeces har enligt olika källor referensvärden/beslutsgränser runt 500-600 mg/L. Det finns ingen internationellt accepterad faeceskalibrator för alfa-1-antitrypsin och det andra problemet är att resultatet påverkas av vilka detergenter som används. Faeces alfa-1-antitrypsin analyseras med en ELISA metod. ELISA metoder har mätområden runt 500 pg/mL = 500 ng/L. Det innebär att alla Faecesprover behöver förspädas i storleksordningen 1 miljon ggr före analys. I vilken buffert? Hur reproducerbart är det? Stabilitet av spädda prover? Hur späder vi proverna reproducerbart 1 milj gånger? Spädningarna ökar behovet av personalinsatser kraftigt. Metoden faller under IVD-R direktivet vilket kommer kräva klinisk validering. Jag är mycket tveksam till att F-alfa-1-antitrypsin metoden kommer att överleva IVD-R vilket i sin tur innebär att metoden försvinner i Europa 2027-2028 med nuvarande IVD-R planering. USA håller just på att revidera sin lagstiftning motsvarande IVD-R och kommer med största sannolikhet komma med liknande krav.

När man läser litteraturen så får jag ett intryck av

att detta är en forskningsanalys som glidit över till att bli en rutinmetod i viss omfattning. Det verkar inte som man utvärderat olika proteinmarkörer mot varandra eller att man gjort någon bedömning av hur praktisk metoden är. Skulle man tex kunna tänka sig F-albumin som ett alternativ till F-alfa-1-antitrypsin? Albumin är i regel stabilare än alfa-1-antitrypsin. Boehringer Mannheim lanserade på 1990-talet ett F-albumin test som alternativ till F-Hb test vilket talar för att albumin är stabilt även i faeces. Koncentrationerna i plasma är i regel 20-30 ggr högre än för alfa-1-antitrypsin. Molekylerna är ungefär lika stora, vilket innebär att vi borde ha en beslutsgräns runt kanske 10 g/L i faeces om vi extrapolerar data från alfa-1-antitrypsin. Om vi sedan använder de extraktionsrör som vi använder för F-calprotectin, så får vi en spädning någonstans runt 50 eller 500 ggr. Vi skulle då leta efter albuminkoncentrationer i de extraherade materialet runt 20-200 mg/L. I mina öron låter det som att jag skulle kunna använda ett av våra vanliga extraktionsrör som vi använder för F-calprotectin och sedan köra proverna med en urin-

albumin metod. Det skulle ge en snabb och enkel metod för den här patientgruppen. Det skulle också bli betydligt mycket billigare än nuvarande kostnader på över 1000 SEK per prov.

Vi vet ju också att patienter med ulcerös kolit, Mb Crohn hemorrojder, eller tumörer har blödningar till tarmen och ökade nivåer av plasmaproteiner i faeces. Det innebär att oavsett metod så kommer vi få falskt positiva resultat från andra sjukdomar än proteinför-lorande enteropati.

Problemet är att den internationella rekommendationen säger dygnsmängd alfa-1-antitrypsin. Går det att ändra på det? Jag har en känsla av att det kan vara svårt. Kanske vi får låta IVD-R först ta död på F-alfa-1-antitrypsin analysen innan vi kan ersätta den med F-albumin?

Keaney NP, Kelleher J. Faecal excretion of alpha 1-antitrypsin in protein-losing enteropathy. *Lancet*. 1980 Mar 29;1(8170):711.



type 2: sausage-shaped & lumpy



type 3: sausage-shaped with cracks in the surface



type 4: smooth & soft sausage

BRISTOL Stool Chart



type 1: separate hard lumps



type 5: soft blobs with clear-cut edges



type 6: mushy consistency with ragged edges



type 7: liquid consistency with no solid pieces

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 Mitchell (København), Anna Linko-Parvinen (Turku), Eeva-Riitta Savolainen (Oulu), Ólöf Sigurdardóttir (Akureyri), Leifur Franzson (Reykjavík), Joakim Eikeland (Oslo), Inga Zelvyte (Jönköping), Ingrid Hokstad (Lillehammer). **Ordförande i NFKK:** Per Bjellerup (Västerås).

Redaktionen för Klinisk Biokemi i Norden

Hovedredaktør: Helle Borgstrøm Hager · Layout: kindly.dk · 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



Norge

Overlege Helle Borgstrøm Hager
Sentrallaboratoriet
Sykehuset i Vestfold, Postboks 2168
3103 Tønsberg
Telefon: +47 33 34 30 53
helle.hager@siv.no



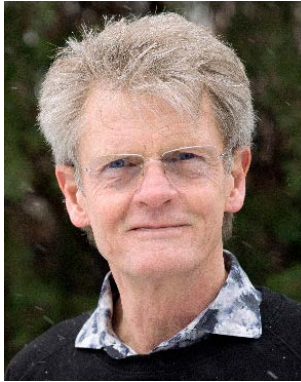
Sverige

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



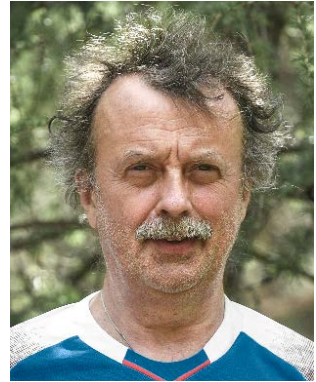
Finland

Överläkare Kristina Hotakainen
Vårdbolaget Mehiläinen
Laboratrieenheten
Norra Hesperia­gatan 17 C
FIN-00270 Helsingfors
Telefon: +358 50 4904 181
kristina.hotakainen@helsinki.fi



NFKK

Överläkare Per Bjellerup
Laboratoriemedicin Västmanland
Västmanlands sjukhus
SE-721 89 Västerås
per.bjellerup@regionvastmanland.se

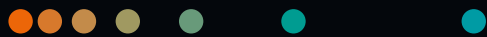


Finland

Sjukhuskemist Henrik Alfthan
Stormyrvägen 1 A 11
FIN-00320 Helsingfors
Telefon: +358 50 358 0101
henrik.alfthan@welho.com

See more than ever without touching a microscope

Scopio X100 Imaging Platforms



Full-Field Morphology is the first-of-its-kind solution to capture the entire slide digitally enabling fast access to a high degree of information and reduction in turnaround time for peripheral blood smears by up to 60%.¹



1. Katz B-Z, et al. Evaluation of Scopio Labs X100 Full Field PBS: The first high-resolution full field viewing of peripheral blood specimens combined with artificial intelligence-based morphological analysis. *Int J Lab Hematol.* 2021;00:1–9. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13681>. This study was funded by Scopio Labs.