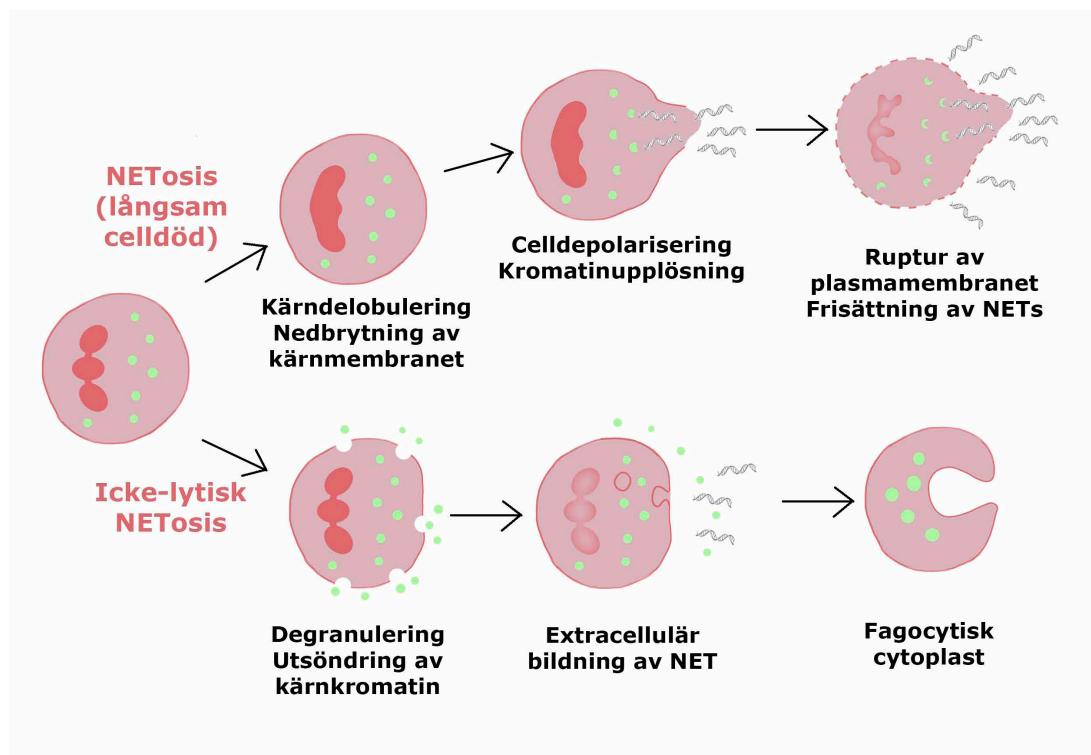


# Klinisk Biokemi i Norden





## 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
	Reumatoid arthritis		Pernicious anaemia
	Vasculitis and Goodpasture syndrome		Metabolic disorders
	Antiphospholipid syndrome		Autoimmune liver diseases
	Coeliac disease		Immune deficiencies

Read more  
about our  
EliA auto-  
immunity  
assays here



Find out more at [thermofisher.com/phadia](https://thermofisher.com/phadia)

thermo scientific

## INDHOLD

Leder: Er fremtiden til KBN papirløs? .....	4
<i>Helle Hager</i>	
Ordförandespalten .....	6
<i>Per Bjellerup</i>	
Hellsingprisvinnere er Aasne Aarsand og Sverre Sandberg .....	8
<i>Helle Hager</i>	
1st prize in the NFKK Young Researcher Award (NYRA):	
Is atherosclerosis a tumour of the artery wall?.....	10
<i>Lasse Bach Steffensen</i>	
Implementering af første trimester screening for præeklampsi i Danmark.....	12
<i>Line Rode, Charlotte K Ekelund, Iben Riishede, Olav Bennike Bjørn Petersen, Martin Overgaard</i>	
Diagnosing antithrombin deficiency: How many cases do we miss? .....	17
<i>Majse Myler, Jens Peter Gøtze, Søren Risom Kristensen, Emil List Larsen</i>	
The IFCC-IUPAC's Nomenclature for Properties and Units (NPU) in Scandinavia .....	24
<i>Steen Antonsen, Erik Koldberg Amundsen, Rebecca Ceder, Karin Toska,</i>	
<i>Mette Christophersen Tollånes, Young Bae Hansen, Gunnar Nordin</i>	
NETS (neutrophil extracellular traps) .....	30
<i>Anders Larsson</i>	
EWMA til overvåkning av nivåforskjell mellom to analyseinstrumenter .....	34
<i>Arne Aasberg og Bjørn Bolann</i>	
Course: The Professional Role of a Clinical Biochemist / Laboratory Doctor .....	40
<i>Linda Hilsted, Nete Hornung</i>	

**Front page:** *Formation pathways for neutrofile ekstracellulære fælder (NETs). Lavet af Henrik Alfthan, inspireret af en figur i (1). Læs om NETs i dette nummer.*

1. Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease.  
*Nat Rev Immunol.* 2018;18:134-147.

**Leder:**

# Er fremtiden for KBN papirløs?

Helle B. Hager



## Hvordan det hele startet

I 1989 besluttet NFKKS styre at tiden var moden for utgivelse av et nordisk medlemsblad. Kristoffer Hellsing fra Sverige og daværende formann i NFKK, Sverre Landaas fra Norge, hadde klart å skaffe finansiering til oppstart fra industrien og NFKK, med økonomiske garanter fra Nordkem\*. Det første medlemsbladet kom ut i desember samme året. Bladet het *Klinisk Kemi i Norden*, forkortet til KKN. I første omgang ble utgivelsen planlagt for en prøveperiode på 3 år. Bladet var ment å styrke det nordiske samarbeidet og skape bedre kontakt med medlemmene.

## Den første redaksjonen

Redaksjonskomitéen bestod av syv medlemmer, en fra hver av de nordiske medlemsforeninger i tillegg til en fra NFKK-styret og en person fra Nordkems sekretariat. Kristoffer Hellsing var hovedredaktør. Nordkem stilte som økonomisk garantist, men målet var at bladet skulle være finansiert med annonseinntekter. Distribusjonen av bladet var i begynnelsen lagt til Nordkems sekretariat.

## Navneendringer

I 2000 overtok Tor-Arne Hagve fra Norge som hovedredaktør og samtidig fikk tidsskriftet en j i navnet, *Klinisk Kjemi i Norden*. Da Palle Wang fra Danmark overtok sjefsredaktørstolen etter tre år, skiftet bladet på nytt navn. Denne gangen ble det lagt til tre bokstaver og j'n ble igjen en i – *Klinisk*

*Biokemi i Norden*. Dermed fikk bladet sitt nåværende navn og forkortelsen KBN. Etter Palle Wang har de påfølgende hovedredaktører (Per Simonsson, Ingunn Torsteinsdóttir og undertegnede) latt være å endre navnet, som har vært det samme de siste 22 år.

## Papir eller ikke papir?

Bladet har altså helt fra begynnelsen vært trykket på papir og sendt ut til medlemmene i de nordiske landene per post. På et eller annet tidspunkt tok Siemens over arbeidet og kostnadene for utsendelsen av KBN. Jeg har ikke greid å finne ut når dette skjedde; ingen av dem som har vært med lenge i redaksjonen husker noe om dette. Så det må være lenge siden, eller så har alle dårlig hukommelse. Uansett, i svært mange år har KBN blitt sendt ut til de danske, svenske, islandske og norske medlemmene av Siemens, mens finnene har sendt ut bladet selv sammen med sitt medlemsblad, Kliinlab. Fra 2025 ønsker ikke lenger Siemens å stå for utsendelsen av KBN. Tusen takk til Siemens Healthineers for deres mangeårige og viktige bidrag for opprettholdelse av det nordiske medlemsbladet!

Vi i KBN-redaksjonen og i NFKKs styre har diskutert hva som skal skje videre med KBN. Skal vi fortsatt trykke bladet på papir, eller gå over til ren digital publisering? Portoutgifter for å sende ut bladet til alle medlemmene er kostbart. Kan vi øke inntektene ved å skaffe flere annonser? Annonseinntektene har til nå dekket utgifter til grafisk designer og trykking av bladet, administrative kostnader til nettsider og revisor samt utgifter til redaksjonsmøter, 1-2 i året. Imidlertid har vi de siste årene som regel hatt et lite underskudd og det har blitt stadig vanskeligere å skaffe annonsører.

Hvis vi slutter å trykke bladet og går over til en ren digital publisering, vil det være en mer miljøvennlig løsning. Men vi i KBN-redaksjonen og NFKKs styre ønsker ikke å bli papirløse. Vi tror det er lettere å bla gjennom bladet og lese de artikler man fester seg ved, når man har en papirutgave i hånden. Hvis vi sender ut en digital versjon, vil den mer sannsynlig drukne blant

\* Nordkem (Nordisk samprosjekt för klinisk kemi) ble opprettet i 1977. Det ble lagt under Nordisk ministerråd og med sekretariat i Helsinki. Styret besto av en representant fra hvert nordisk land for helsemyndighetene, de fagvitenskaplige foreninger og (fra 1983) for sykehuseierne. NORDKEM støttet og stimulerte en rekke faglige prosjekter innen klinisk kjemi og ble avviklet i 1994.

annen mail. Hva mener medlemmene i de nordiske landene som i dag mottar KBN? Vi tar gjerne imot deres synspunkter.

Utviklingen for aviser og tidsskrifter på papir i Norden har generelt vist en klar nedadgående trend, med en betydelig overgang til digital publisering. Postkassene brukes mindre og mindre. I Norge gikk man over til landsdekkende postombæring annenhver dag fra 2020. Postkassene ble også samlet i stative, slik at distribusjonen tar kortere tid.

Til tross for denne utviklingen har vi i første omgang bestemt at vi fortsetter som før i 2025 og ser hvordan det går. Det vil si at vi vil fortsette å trykke bladet på papir. KBN vil etter planen sendes ut til de nordiske medlemmer fra trykkeriet i Danmark. I løpet av året vil vi så vurdere om utgittene blir høyere enn vi kan tåle. Kanskje blir det bladet du nå holder i hendene snart en saga blott, eller sagt på en mer forståelig måte i dag: snart bare en historie fra gammeldager. Og om noen år er det kanskje ingen som husker at bladet ble sendt ut på papir?



Et lite knippe av blader fra 1989 til 2024. Foto: Helle B. Hager.

# Ordförandespalten

Per Bjellerup  
NFKK chairman



## Dear KBN reader!

I hope you have had chance to relax over the Christmas and New Year holidays and are enjoying that the days are getting longer, and that the birds are singing with new energy. Winter is slowly releasing its grip and evolving into the Northern spring-winter, maybe the best season of the year.

## Our journal *Klinisk Biokemi i Norden*, KBN

As you can read from Helles *ledare*, KBN is in its 36<sup>th</sup> year and was founded to strengthen Nordic collaboration and foster networking among its members. Helle has been our chief editor since 2017 and has

done a fantastic work. Thanks to her dedication the KBN is in its best shape ever. Just look at this issue's table of contents, a lovely mix of inspiring reports of research and development in the Nordics. I also must point out the contributions to KBN of Anders Larsson and Henrik Alftan over many years, both articles and photographs.

## We will keep on as a “real” paper

As you also can read from Helles *ledare*, we no longer receive support for the distribution of KBN. However, the journal will continue to be in paper format! We will at least for 2025, distribute KBN to our members. A good decision by the editorial board and supported, both conceptually and financially by the NFKK board. We do not want KBN to vanish in



Vemdalen in Sweden in afternoon sun late January. Photo: Per Bjellerup.

the digital overflow. You can have it close at hand on your desk or in your briefcase, to read for a few minutes whenever there is the time.

### The nomenclature of Clinical Chemistry

In this issue there is a “pan-nordic” review of NPU with celebrates its 25<sup>th</sup> anniversary. Nomenclature is one of the foundations of our profession, even though it seldom appears in the limelight. NPU has been successfully implemented into clinical chemistry after many years of dedicated work by key colleagues. However, the change in terminology has not always been welcomed by our clinical colleagues. And we must keep in mind that the selected terms shall fit both us as suppliers and our clients that use our reports in the work with patients. For several years our laboratory in Västerås has worked meticulously to use the proper nomenclature, and sometimes

have a bit of a “bias” in favour of us as suppliers. An example from the Swedish NPU database that we have recently worked with, is a bit of a mismatch is the term *P-3-Hydroxibutyrat*. In this case, most of our clients are likely to use the terms *Ketoner* or *Ketonkroppar*. The term *P-3-Hydroxibutyrat* selected in this case is more in line with chemistry than clinical chemistry! When we introduced the method, after some hesitation, we finally decided to name it *B-Ketoner (3-Hydroxibutyrat)*. I think we can have much to gain if we could collaborate as a single Nordic entity on nomenclature henceforth! And there is even more to gain if we also involve representatives from our clients in the work with NPU.

*Meanwhile, enjoy the spring-winter season!  
Sincerely yours (just back from winter holiday)  
Per*



Valdres in February. Photo: Helle B. Hager.

# Hellsingprisvinnere er Aasne Aarsand og Sverre Sandberg

Helle B. Hager

Hellsingprisen 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 Hellsing.

Hellsingprisen 2024 tildeles Aasne Aarsand og Sverre Sandberg for artikkelen «How to diagnose the porphyrias – a group of rare, metabolic disorders» som kan leses i blad nr. 3 2024. Artikkelen er meget velskrevet og gir en flott oversikt over de ulike porfyrisykdommene og hvordan man stiller diagnosene porfyri. Aasne og Sverre har jobbet med porfyrisykdommene i en årekke. Sverre er grunnlegger og tidligere leder ved Nasjonalt kompetansesenter for porfyrisykdommer (NAPOS) ved Haukeland universitetssjukehus i Bergen, mens Aasne er NAPOS nåværende leder. I tillegg er hun overlege ved Avdeling for

medisinsk biokjemi og farmakologi ved Haukeland universitetssykehus og har en bistilling i Norsk kvalitetsforbedring av laboratorieundersøkelser (Noklus), der Sverre er leder. Sverre er også professor emeritus ved institutt for global helse og samfunnsmedisin ved Universitetet i Bergen.

Prisen består som vanlig av et kunstverk – som kanskje kan inspirere til å skrive flere gode artikler til KBN. Årets Hellsingpris er den 17. i rekken. Når det er to forfattere, deles prissummen på to, men Sverre har ønsket at Aasne skal motta prisen alene. Det var flere gode kandidater til Hellsingprisen i 2024. På en god andre plass kom Anders Larsson og Henrik Alfthans artikkel «Tekniker för att hantera prover där man misstänker förekomst av störande antikroppar» og på tredjeplace kom Tore Curstedt med sin artikkel «Development of surfactant for treatment of premature infants with immature lungs», begge i blad nr. 1.

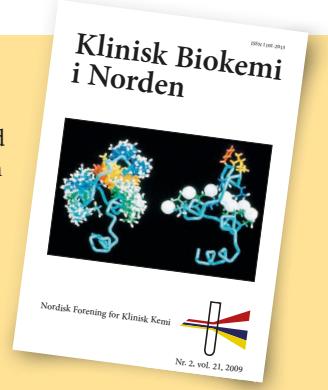


Hellsingprisvinneren  
2024 er Aasne Aarsand.  
Kunstverket som Aasne  
har valgt er et trykk som er  
håndkolorert med akvarell  
av den norske kunstneren  
Lise Birkeland .

År	Prisvinner	Artikkeltittel	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 Mørkrid)	Referensintervaller – en praktisk veiledning	Norge
2010	Christer Alling	Fosfatidyletanol – molekyl på villovägar som hittade rätt	Sverige
2012	Steen Stender	Laboratorieresultater, der skaber lovaendringer	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	Epigenetikk– en molekylær bro mellom arv og miljø	Norge
2019	Louise Ambye, (Finn Stener Jørgensen og Line Rode)	Føtalmedisin 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 Hellsing?

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 varnade han om det utåtriktade. De folkliga och fullsatta användarmöten som han skapade, som intellektuell bas för kollegialt utvecklande, lever vidare i god hälsa.



# Is atherosclerosis a tumour of the artery wall?

Lasse Bach Steffensen, PhD, Associate Professor

Department of Molecular Medicine, University of Southern Denmark

[lsteffensen@health.sdu.dk](mailto:lsteffensen@health.sdu.dk)

Atherosclerosis is the underlying cause of blood clots in, for instance, the heart or brain - a disease about which we have gained significant knowledge. We know, for example, that the disease is driven by elevated levels of LDL (low-density lipoprotein) in the blood and that various lifestyle factors, such as smoking and high blood pressure, accelerate its progression. Moreover, our genes play a significant role in the disease's development.

Despite advances in reducing risk through medical treatments - primarily with statins, which lower cholesterol, and blood pressure-lowering medications - atherosclerosis remains one of the leading causes of death worldwide.

It is remarkable that we still lack medical tools that directly target the diseased artery tissue. Such tools could potentially complement existing treatments and further reduce the risk of death from cardiovascular disease.

At the Department of Clinical Biochemistry at Odense University Hospital, arterial samples have been systematically collected for many years from patients undergoing cardiovascular surgery at the hospital.

This initiative, foresightedly launched by Prof. Lars Melholt Rasmussen in 2009, has been made possible through close collaboration with research-oriented surgeons, nurses, and, not least, patients. The arterial biobank supports basic research into arterial diseases, especially in Odense, where researchers like myself can only conduct our studies if we have access to patient tissue.

One question we have long been interested in answering is whether atherosclerosis shares traits with cancer - specifically, whether mutations occur in the cells of the arterial wall, and whether this could lead to aggressive cell division and growth of disease tissue.



To answer this, we collaborated with researchers from the Clinical Genome Center, located on the floor below the Department of Clinical Biochemistry. Here, we sequenced DNA purified from atherosclerotic plaques. The mutations we investigated were somatic mutations that arise in our tissues during our lifetime. These differ from the mutations (or rather, genetic variants) inherited from our parents. We compared the DNA sequences from plaque tissue with DNA from the same patients' blood.

The results were striking: 12 out of the 13 patients initially studied had significant amounts of mutations in their atherosclerotic plaques. Even more intriguing was that our sequencing data revealed that large portions of the cells in the analyzed samples carried the same mutations. Hundreds of thousands of cells - up to 15% of the cells in certain samples - had arisen from the division of a single ancestral cell that had acquired the mutation at some point. Just like we see in cancer - maybe...

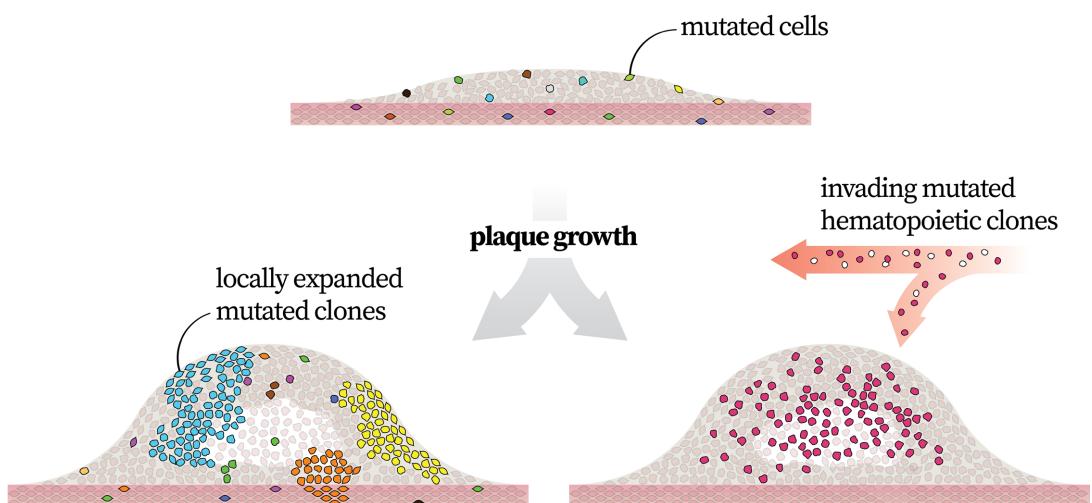
At this stage, we cannot definitively say whether the mutations cause the aggressive cell division. Another possibility is that the cell division results from mechanisms independent of the mutations, and the mutations are merely "passengers." Supporting this latter idea is the observation that we find mutations in hundreds of different genes without hotspots, such as TP53, in which mutations are commonly found in cancers. On the other hand, the mutated genes are not entirely random; many share common themes related

to smooth muscle cell function - a cell type known to play a central role in atherosclerosis and shown to have significant proliferation potential in mouse models. So, is atherosclerosis an arterial tumor? At the very least, it seems that plaque growth may share similarities with tumor development. However, we have only scratched the surface of what we consider an extremely exciting and novel perspective on an important disease. We are working to answer the many questions we now face, both by profiling mutations in many more patients and using new methods that can provide answers to these questions.

Currently, we are primarily curious about the underlying biology and its impact on disease progression. Still, we also hope that our research may lead to new medical approaches that can benefit all of us living with growing atherosclerotic plaques.

## References

1. Larsen JH, Hegelund JS, Pedersen MK, et al. Smooth muscle-specific deletion of cellular communication network factor 2 causes severe aorta malformation and atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 2024;120:1851-68.
2. Steffensen LB, Kavan S, Jensen PS, et al. Somatic mutations reveal clonal cell populations in atherosclerotic plaques. [Epub ahead of print] medRxiv August 2023 as <https://doi.org/10.1101/2022.05.16.22275001>



Graphical abstract for the project, showing the project's main findings

# Implementering af første trimester screening for præeklamps i Danmark

Line Rode<sup>1,2</sup>, Charlotte K Ekelund<sup>2,3</sup>, Iben Riishede<sup>3</sup>, Olav Bennike Bjørn Petersen<sup>2,3</sup>, Martin Overgaard<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Afdeling for Klinisk Biokemi, Rigshospitalet, København

<sup>2</sup> Afdeling for Klinisk Medicin, Københavns Universitet, København

<sup>3</sup> Afdeling for Graviditet, Fødsel og Barsel, Rigshospitalet, København

<sup>4</sup> Blodprøver og Biokemi, Odense Universitetshospital, Odense

line.rode@regionh.dk



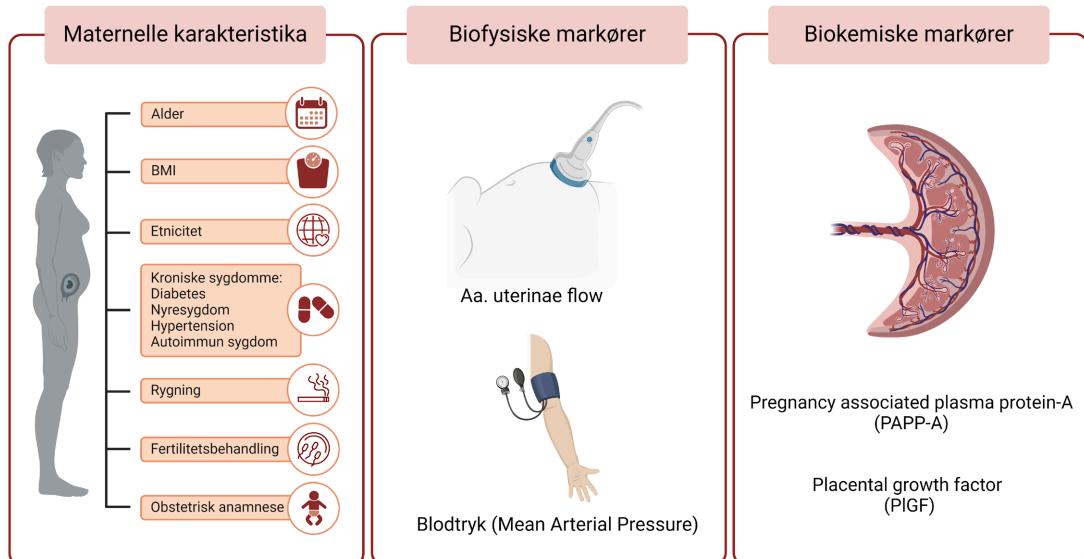
## Baggrund

Præeklamps er en alvorlig graviditetskomplikation, der kan medføre betydelige risici for både mor og barn. Tilstanden karakteriseres ved gestationel hypertension ledsaget af proteinuri og/eller tegn på organsvigt og forekommer hos 3-5% af gravide i de nordiske lande. Præeklamps kan opstå fra omkring uge 20 i graviditeten, men er hyppigere tættere på termin og kan kun helbredes ved, at moderkagen, og derved også barnet, forløses (1). Alvorlige tilfælde, der fører til forløsning før uge 37, kaldes præterm præeklamps. Acetylsalicylsyre, også kendt som Hjertemagnyl, Magnyl eller Aspirin, har vist sig at kunne forebygge præeklamps ved at hæmme cyklooxygenase-1 enzymet, hvilket reducerer inflammation og trombocytaggregation. Effekten er formentlig størst ved dosis  $\geq 100$  mg dagligt, og det ser ud til, at den optimale effekt opnås

ved behandling påbegyndt før 16 graviditetsuger (2). Den danske nationale guideline for acetylsalicylsyre i graviditeten ([www.dsog.dk](http://www.dsog.dk)) anbefaler aktuelt behandling med 150 mg dagligt til forebyggelse af præeklamps til kvinder med mindst én højrisikofaktor (tidligere svær eller tidligt indsættende præeklamps, kronisk hypertension, prægestationel diabetes mellitus, systemisk lupus erythematosus, kronisk nyresygdom eller graviditet efter ægdonation). Profylaktisk behandling kan overvejes hos gravide med mindst to moderate risikofaktorer (tidligere præeklamps uden tegn på svær sygdom, body mass index  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>, flerfoldsgraviditet, nulliparitet, maternel alder  $\geq 40$  år, mere end 10 år siden sidste fødsel). På trods af, at guidelines har indeholdt anbefalinger om profylaktisk behandling siden 2013, er der ikke observeret et fald i incidensen af præterm præeklamps i Danmark, hvilket fremgår af et dansk registerstudie, der omfattede næsten 600.000 graviditeter fra 2008 til 2017 (3). Den samlede incidens af præeklamps var 3,2%, og der var 0,7% med præeklamps og forløsning før uge 37 og knap 0,3% med forløsning før uge 34.

## Første trimester screening ud fra FMFs algoritme

Som det første land i verden implementerede Danmark i 2004 et gratis tilbud til alle om ultralydskanning og undersøgelse for kromosomafvigelser i første trimester. Dette meget unikke nationale prænatale screeningprogram har opnået høj accept blandt danske kvinder og positiv international opmærksomhed (4,5). Screening for præeklamps er nu mulig ved hjælp af en lignende statistisk tilgang, idet The Fetal Medicine Foundation (FMF) har udviklet en model, som kan prædictere den individuelle risiko for at udvikle præterm præeklamps allerede i første trime-



Figur 1: FMFs screeningsmodel kombinerer maternelle faktorer med måling af blodtryk, ultralydsmåling af modstanden i livmoderarterierne og de to biokemiske markører PIGF og PAPP-A. (Ref. Ugeskrift for Læger, in press. Illustration udarbejdet med BioRender.com)

ster af graviditeten. I denne model kombineres kvindens *a priori* risiko for præeklampsia fra maternelle faktorer med måling af blodtryk, ultralydsmåling af modstanden i livmoderarterierne og de biokemiske markører placental growth factor (PIGF) og pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) (Figur 1). Modellen giver en høj detektionsrate på 70% for præterm præeklampsia (fødsel før 37 ugers graviditet) for en 10% screen-positiv rate (6). I 2017 viste et stort multicenter randomiseret studie (ASPRE) af høj-risiko gravide, at lavdosis acetylsalicylsyre mindskede andelen af tilfælde af præterm præeklampsia med 62% (95% CI 20-74%) og reducerede neonatal indlæggelsestid med 68% (95% CI 20-86%) (7,8). Der er begrænset evidens for effekten af acetylsalicylsyre hos tvillingegravide, men en nyere meta-analyse indikerede en effekt med nedsat risiko for præterm præeklampsia. Et igangværende randomiseret multinationalt studie på tvillingegravide (ASPRE-T), som Rigshospitalet deltager i, undersøger, om 150 mg acetylsalicylsyre dagligt kan forebygge præterm præeklampsia blandt 2400 tvillingegravide (EudraCT/ CTIS number 2019-003341-15).

Vi har i 2023 offentliggjort resultaterne af PRESIDE (PREeclampsia Screening In Denmark); et dansk multicenter valideringsstudie, der viser høj performance ved anvendelse af FMF modellen i scree-

ning for præeklampsia i en dansk befolkning på mere end 8000 kvinder (Figur 2) (9). Sammenlignet med den traditionelle screeningsmetode, der udelukkende bruger maternelle risikofaktorer, er FMF-modellen væsentligt overlegen, og den introducerer muligheden for en personlig risikovurdering, der kombinerer risikofaktorerne med beskyttende faktorer (9,10). Udeover det danske PRESIDE studie er FMF-modellen valideret i adskillige forskellige populationer, både i multinationale studier samt i multicenter cohorts fra Spanien, Holland, Kina, Japan, og Australien, med lignende screeningsperformance. I Sverige evalueres data fra IMPACT (Improving Maternal Pregnancy And Child ouTcomes) studiet i øjeblikket med henblik på vurdering af både FMF-algoritmen og en alternativ model tilpasset den svenske befolkning (11).

### Implementering af første trimester screening for præeklampsia

Foster et al (12) har i 2023 publiceret en systematisk gennemgang og meta-analyse af effekten af screening i første trimester ved hjælp af FMF-modellen, efterfulgt af behandling med acetylsalicylsyre. Her fandt de, at forekomsten af præterm præeklampsia reduceres med 39% blandt gravide, der er screenet og behandlet med acetylsalicylsyre sammenlignet med standardbehandling. Indtil nu har kun relativt

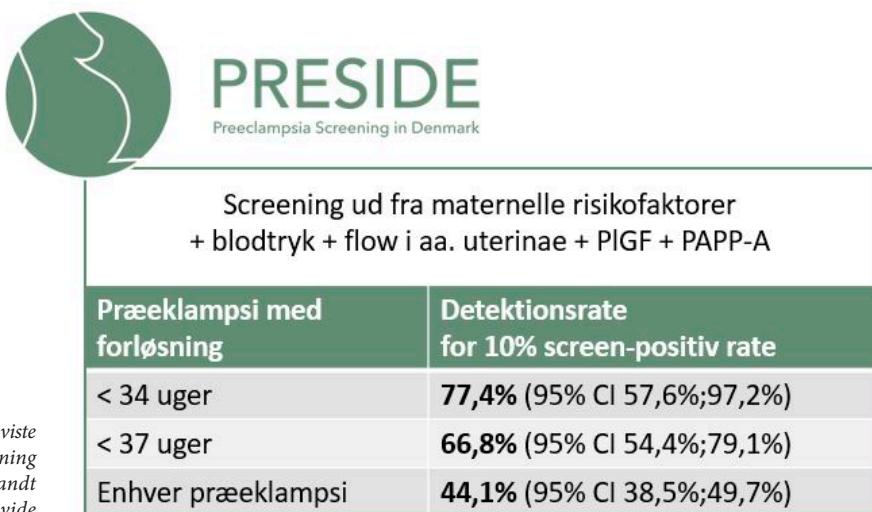
få enkeltcentre internationalt, ofte i privat regi, implementeret denne screeningsprotokol. Der er i 2023 og 2024 publiceret data fra to yderligere studier (13,14). Det senest publicerede studie er det første, der ikke har kunnet vise en signifikant reduktion i forekomsten af præterm præeklampsia (14). Studiet fandt dog en 40% reduceret forekomst af præterm præeklampsia, når de sammenlignede højrisikogravide, der havde taget acetylsalisylsyre, med højrisikogravide, der ikke havde taget acetylsalisylsyre. Tillæg af disse to nyeste studier til Fosters meta-analyse viser fortsat, at forekomsten af præterm præeklampsia reduceres (odds ratio på 0,65 (95% CI 0,57-0,73)) (Figur 3). Eksklusion af den hidtil største opgørelse på mere end 300.000 australske kvinder (15) medfører samme konklusion (odds ratio 0,65 (95% CI 0,55-0,77)).

#### **REPRED – PREeclampsia PREvention in Denmark: Forebyggelse af svangerskabsforgiftning i Danmark - Et nationalt stepped wedge kvalitets- kontrolprojekt af første trimester screening**

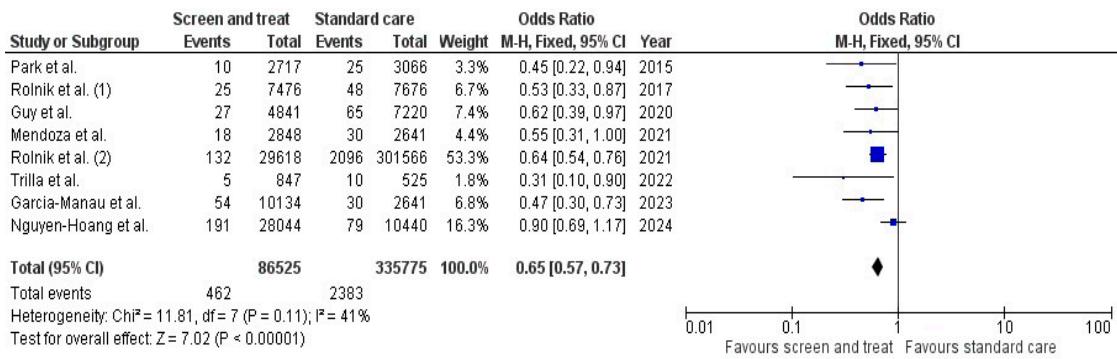
I Danmark planlægger vi aktuelt at indføre en ændring af screeningspraksis, idet første trimester screening for præeklampsia implementeres nationalt i et stepped wedge design (PREPRED, PREeclampsia PREvention in Denmark). Vi ønsker at evaluere danske kvinders deltagelse og compliance i screeningen, effekten på forekomsten af præterm præeklampsia og evaluere maternelle og neonatale komplikationer efter implementering af første trimester screening

for præeklampsia i Danmark. Et sådant initiativ kræver bredt samarbejde med opbakning og input fra mange sider. PREPREDs styregruppe består således, udover initiativtagerne til PREPRED, af en repræsentant for føtalmedicinen fra hver af de fem danske regioner, formanden for Dansk Selskab for Gynækologi og Obstetrik, formanden for Dansk Føtalmedicinsk Selskab, en udpeget repræsentant fra Dansk Selskab for Klinisk Biokemi, formanden fra Jordemoderforeningen samt formanden fra Dansk Præmatur Forening.

PRESIDE studiet viste, at screening ud fra FMF-algoritmen er muligt i DK - men også at vores nuværende første trimester set-up skal justeres, og at anvendelse af FMF-algoritmen kræver tilpasning til den danske population. I Danmark tager vi aktuelt blodprøven til første trimester undersøgelse for kromosomafvigelser i graviditetsuge 8-14, hvoraf størstedelen af prøverne tages i uge 8-10. PRESIDE studiet har fastslået, at blodprøven til screening for præeklampsia bør tages fra graviditetsuge 10+0 og frem for at sikre optimal performance (16). Dette betyder, at vi bør omlægge tidspunktet for blodprøvetagningen, hvis den samme blodprøve skal kunne anvendes til screening for både kromosomafvigelser og præeklampsia. Dette er essentielt, både af hensyn til de gravide, som fortsat kun skal have taget én blodprøve, men også af sundhedsøkonomiske hensyn. Endnu ikke publicerede nationale data har vi fundet, at et sådan skift fra blodprøvetagning



Figur 2: PRESIDE studiet viste høj performance i screening for præeklampsia blandt godt 8000 danske gravide



Figur 3: Meta-analyse af studier, der har undersøgt effekten af screening i første trimester ved hjælp af FMF-modellen efterføgt af behandling med acetylsalicylsyre sammenlignet med standardbehandling.

i uge 8-14 til uge 10-14 ikke vil påvirke vores nationale screeningsperformance for kromosomafvigelser. Justering af FMF-algoritmen til den danske population kan vi basere på data fra de mere end 8000 danske kvinder fra PRESIDE kohorten. Dette sker gennem tilpasning af beregningen i Astraia, den føtalmedicinske journaldatabase der benyttes på alle føtalmedicinske/obstetriske afdelinger i Danmark. I PRESIDE studiet erfarede vi desuden, at regelmæssig audit af flowmålingerne i arteriae uterinae er vigtigt, da dette muliggør en optimering af de individuelle sonografers målinger. I et kvalitativt studie fandt vi, at danske kvinder generelt er positive overfor screening for præeklampsi (17). PREPRED vil således være baseret på den viden, vi allerede har opnået i PRESIDE studiet.

I PREPRED vil implementeringen af første trimester screening ud fra FMF-algoritmen ske trinvist med opstart på et hospital ad gangen, indtil alle føtalmedicinske afdelinger i landet tilbyder screeningen. PREPRED anvender således en stepped wedge implementering med tilfældig opstartsrekkefølge. Screeningen vil blive tilbuddt til alle singleton gravide kvinder, som ikke har kontraindikationer for behandling med acetylsalisylsyre. Opgørelse af resultaterne vil altså ske på baggrund af data fra Dansk Føtalmedicinsk Database samt nationale registre. I praksis vil PREPRED således blive udført som et ‘multiple baseline interrupted time series’ design for at tillade anvendelse af de danske nationale registre. I henhold til dette design vil et nyt site hver måned skifte fra baseline eller standardbehandling for prædiktion og forebyggelse af præeklampsi

(i henhold til nuværende guidelines og praksis) til risikovurdering ud fra FMF-algoritmen og profylaktisk behandling med 150 mg acetylsalisylsyre. Resultaterne forventes opgjort i 2027.



## References

1. Roberts CL, Ford JB, Algert CS, et al. Population-based trends in pregnancy hypertension and pre-eclampsia: an international comparative study. *BMJ Open* 2011;1:e000101.
2. Roberge S, Bujold E, Nicolaides KH. Aspirin for the prevention of preterm and term preeclampsia: systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2018;218:287-93.
3. Rode L, Ekelund CK, Riishede I, et al. Prediction of preterm pre-eclampsia according to NICE and ACOG criteria: descriptive study of 597 492 Danish births from 2008 to 2017. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2021;58:561-7.
4. Ekelund CK, Jorgensen FS, Petersen OB, et al. Danish Fetal Medicine Research Group Impact of a new national screening policy for Down's syndrome in Denmark: population based cohort study. *BMJ* 2008;337:a2547-a2547.
5. Hyett JA. The Danish Fetal Medicine Database: revealing the fruits of collaborative research. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2015;94:561-2.
6. Wright D, Wright A, Nicolaides KH. The competing risk approach for prediction of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2020;223:12-23 e7.
7. Rolnik DL, Wright D, Poon LC, et al. Aspirin versus Placebo in Pregnancies at High Risk for Preterm Preeclampsia. *N Engl J Med* 2017;377(7):613-22.
8. Wright D, Rolnik DL, Syngelaki A, et al. Aspirin for Evidence-Based Preeclampsia Prevention trial: effect of aspirin on length of stay in the neonatal intensive care unit. *Am J Obstet Gynecol* 2018;218:612 e1-612 e6.
9. Riishede I, Rode L, Sperling L, et al. Pre-eclampsia screening in Denmark (PRESIDE): national validation study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2023;61:682-90.
10. O'Gorman N, Wright D, Poon LC, et al. Multi-center screening for pre-eclampsia by maternal factors and biomarkers at 11-13 weeks' gestation: comparison with NICE guidelines and ACOG recommendations. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017;49(6):756-60.
11. Bergman L, Sandström A, Jacobsson B, et al. Study for Improving Maternal Pregnancy And Child ouTcomes (IMPACT): a study protocol for a Swedish prospective multicentre cohort study. *BMJ Open* 2020;10(9):e033851.
12. Foster AB, Park F, Hyett J. Do first-trimester screening algorithms for preeclampsia aligned to use of preventative therapies reduce the prevalence of pre-term preeclampsia? A systematic review and meta-analysis. *Prenat Diagn* 2023;43:950-8.
13. Garcia-Manau P, Bonacina E, Serrano B, C, et al. Clinical effectiveness of routine first-trimester combined screening for pre-eclampsia in Spain with the addition of placental growth factor. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2023;102(12):1711-8.
14. Nguyen-Hoang L, Dinh LT, Tai AST, et al. Implementation of First-Trimester Screening and Prevention of Preeclampsia: A Stepped Wedge Cluster-Randomized Trial in Asia. *Circulation* 2024;150:1223-35.
15. Rolnik DL, Selvaratnam RJ, Wertaschnigg D, et al. Routine first trimester combined screening for preterm preeclampsia in Australia: A multicenter clinical implementation cohort study. *Int J Gynecol Obstet* 2022;158(3):634-42.
16. Riishede I, Ekelund CK, Sperling L, et al. Screening for pre-eclampsia with competing-risks model using placental growth factor measurement in blood samples collected before 11 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2024;63(3):342-9.
17. Gerdes SMB, Ekelund CK, Rode L, et al. Motivation towards first trimester screening for preeclampsia among pregnant women in Denmark: A cross-sectional questionnaire study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2023;102:1531-40.

# Diagnosing antithrombin deficiency: How many cases do we miss?

Majse Myler<sup>1</sup>, Jens Peter Gøtze<sup>1</sup>, Søren Risom Kristensen<sup>2</sup>, Emil List Larsen<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Biochemistry, Copenhagen University Hospital – Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark

<sup>2</sup>Department of Clinical Biochemistry, Aalborg University Hospital, Aalborg, Denmark

\*emil.list.larsen.01@regionh.dk



We have published the text (in Danish) in DSTH Forum 2024, 3rd edition. With permission from copy-right holders (DSTH Forum), we present this revised text with reuse of tables and figure.

Antithrombin is the most important anticoagulant protein in the body, and hereditary deficiency is associated with a markedly increased risk of acquiring venous thromboembolic disease. Therefore, analysis of antithrombin activity is a central element in thrombophilia testing. Current diagnostic methods identify reduced amounts of antithrombin (quantitative defects) but are less efficient in diagnosing non-effective antithrombin (qualitative defects). This paper lines up the current guidelines and potential sources of error in the analysis of antithrombin.

Antithrombin is a serine protease produced in the liver. Antithrombin exerts anticoagulant effects in the bloodstream by inhibiting activated coagulation factors, e.g., coagulation factor II<sub>a</sub> (thrombin) and coagulation factor X<sub>a</sub>. When heparin binds

to antithrombin, a conformational change occurs that increases the anticoagulant effect of antithrombin significantly (1).

## Acquired antithrombin deficiency

Acquired antithrombin deficiency occurs far more frequently than hereditary antithrombin deficiency, and it is therefore important to rule out these causes. Overall, the causes for acquired antithrombin deficiency can be i) reduced synthesis, ii) increased consumption and iii) increased loss. (Table 1)*Reduced synthesis* can be caused by impaired liver function (e.g., cirrhosis) or a reduced quantity of building stones for synthesis, which – in turn – can be caused by malnutrition or medicine use. *Increased consumption* of antithrombin may occur when coagulation processes are activated. *Increased loss* of antithrombin is sometimes seen in association with nephrotic syndrome, where proteins are released into the urine. Increased metabolism of antithrombin is also observed during heparin treatment.

Causes	May be due to
Reduced synthesis	Malnutrition Diseases of the liver Medicine containing L-asparagi
Increased consumption	Major surgical procedures Acute thrombosis Inflammation Disseminated cardiovascular coagulation
Increased loss	Nephrotic syndrome (proteinuria) Heparin treatment

Table 1. Causes for acquired antithrombin deficiency.

## **Hereditary antithrombin deficiency**

The prevalence of hereditary antithrombin deficiency has been estimated to 0.02-0.17% in the general population and 1-5% in patients with venous thromboembolic disease (1). The gene, *SERPINC1*, encodes the antithrombin protein, and currently, 497 pathogenic gene variants have been described (2). Antithrombin deficiency is categorized as quantitative defects (type I) and qualitative defects (type II). The qualitative defects are further subgrouped according to whether the variant acts on the heparin-binding capacity of antithrombin ('heparin binding site'; HBS), on the active area ('reactive site'; RS) or has pleiotropic effects (PE). Studies indicate that variants in the heparin-binding domain of antithrombin generally entails a smaller risk of thrombosis than variants in the active area of antithrombin (3,4).

## **Measuring antithrombin**

In principle, antithrombin activity or quantity can be determined. The ratio (=activity/quantity) can be used to distinguish between qualitative and quantitative defects (1), but many laboratories no longer determine antithrombin quantity (=antigen).

The functional methods quantify antithrombin activity either by means of a coagulation factor II<sub>a</sub>- or X<sub>a</sub>-based assay, which determines antithrombin's capacity to inhibit the coagulation factor in question. In both methods of analysis, plasma from the patient is incubated with heparin, which will activate endogenous antithrombin. Then, an excess of coagulation factor II<sub>a</sub> or X<sub>a</sub> is added, which will be made inert by the antithrombin-heparin complex. The excess quantity of coagulation factor II<sub>a</sub> or X<sub>a</sub> is determined by adding a chromogenic substrate, which is split by coagulation factor II<sub>a</sub> or X<sub>a</sub> into a substrate that can be determined photometrically.

Antithrombin (patient sample) + heparin → [Antithrombin-heparin]

[Antithrombin-heparin] + coagulation factor II<sub>a</sub>/X<sub>a</sub> (excess) → [Antithrombin-heparin-coagulation factor II<sub>a</sub>/X<sub>a</sub>] + coagulation factor II<sub>a</sub>/X<sub>a</sub> (residual)

Coagulation factor II<sub>a</sub>/X<sub>a</sub> (residual) + chromogenic substrate → peptide + chromogenic product

## **Reasons for the differences between analytical methods**

Several aspects regarding the analysis methods can affect the results. An essential difference is the type of test (coagulation factor II<sub>a</sub> vs. X<sub>a</sub>), the origin of the coagulation factor II<sub>a</sub> (thrombin) used (bovine vs. humane), and the incubation period with heparin. All the variables mentioned matter regarding the sensitivity and specificity of the test. Furthermore, the concentrations of reagents in the different assays (this info is not available from the manufacturers) combined with the pre-incubation period are important for the ability to detect antithrombin defects.

### *Incubation period – heparin*

To detect variants in the heparin-binding domain of antithrombin, it is recommended to use a short incubation period with heparin (=30 seconds) or reagents shown to detect HBS variants through a longer incubation period (1). At a longer incubation period with heparin, it will often activate antithrombin in spite of variants in the heparin-binding domain.

### *Type of assay*

There are no specific recommendations regarding the choice between the coagulation factor II<sub>a</sub>- or X<sub>a</sub>-based assays. However, it is particularly important to focus on the reference range if human thrombin is used, as human thrombin is inhibited by endogenous heparin cofactor II, which will overestimate antithrombin activity. In the active area, variants exist which to a greater extent influence the inhibition of either coagulation factor II<sub>a</sub> or X<sub>a</sub>. These are of course best identified with the assay in question. Table 2 shows the frequency of variants in *SERPINC1* which are not detected by all functional plasma antithrombin assays.

### *Direct oral anticoagulants (DOAC)*

Direct oral II<sub>a</sub>-inhibitors may entail false increased plasma antithrombin activity when using coagulation factor II<sub>a</sub>-based methods. In parallel, direct oral X<sub>a</sub>-inhibitors may entail false increased plasma antithrombin activity when using coagulation factor X<sub>a</sub>-based methods. Regional differences in use of medication may therefore have an impact on the choice of method.

### **Genetic analysis of *SERPINC1***

Several labs offer sequencing of *SERPINC1*, but there is so far not a general consensus as to when *SERPINC1*

SERPINC1 variant	Expected number of carriers in the Danish population per 1,000,000*	Reference
p.Pro73Leu	2172	5
p.Asn77His	<2	5
p.Arg79Cys	44	5
p.Arg79His	569	5
p.Leu131Phe	29	5
p.Gln150Pro	41	5
p.Arg161Gln	37	6
p.Asn224His	<2	7
p.Glu227Lys	25	7
p.Gly392Asp	<2	8
p.Ala416Ser	3604	6
p.Gly424Asp	<2	1
p.Arg425His	<2	6
p.Ser426Leu	<2	6
<b>Total</b>	<b>~6521</b>	

**Table 2.** Frequency of the genetic variants in SERPINC1 which have been shown to interfere with functional antithrombin assays. \*Estimates are based on allele frequencies in non-Finnish Europeans [source: gnomad.org].

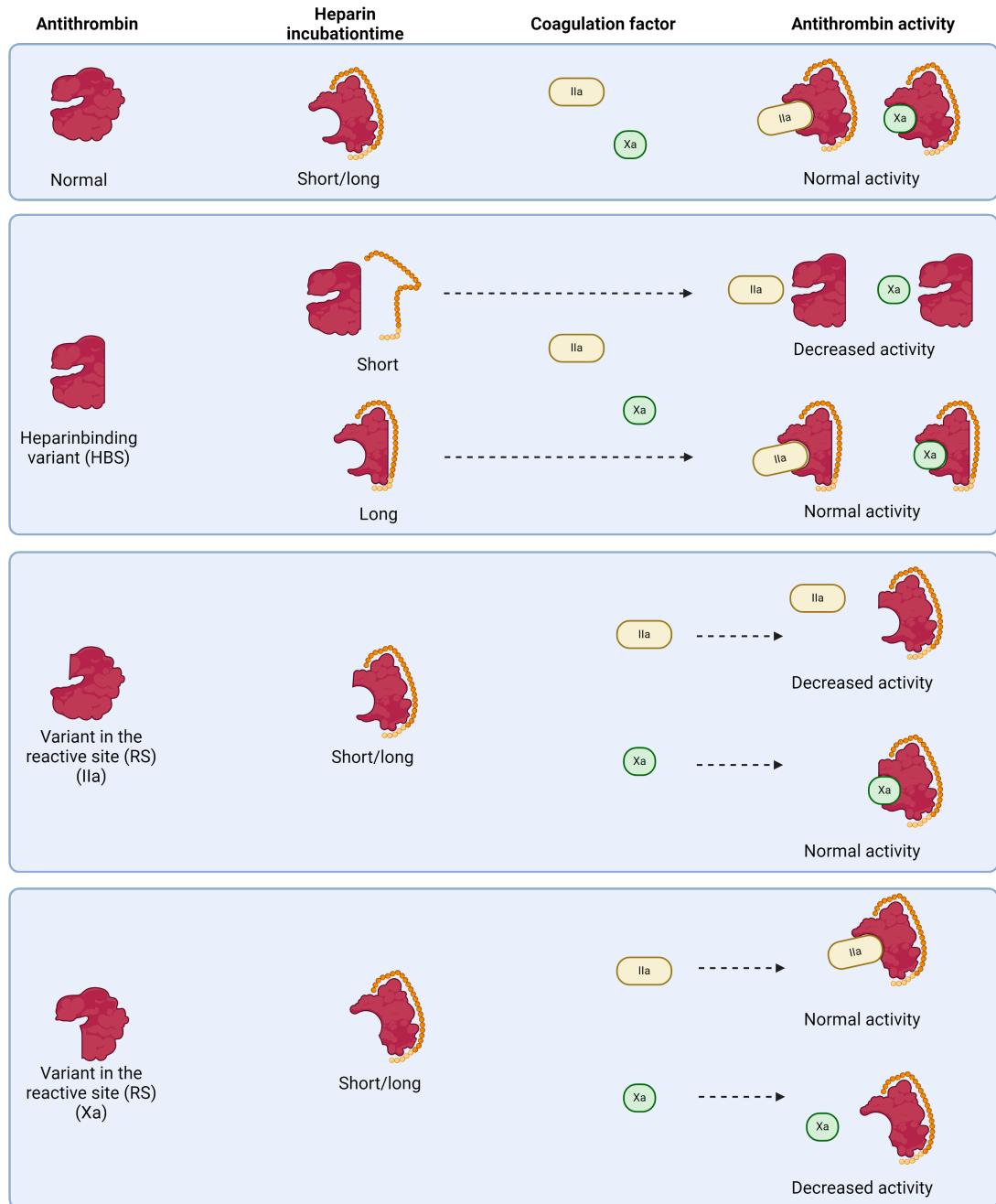
should be sequenced. Initially, acquired causes for antithrombin deficiency must of course be ruled out, but in case of persistent doubt as to whether the antithrombin deficiency is acquired or hereditary, sequencing of SERPINC1 might be considered. Obviously, it has to be ascertained that the analysis has therapeutic consequences for the patient or for an investigation in family members. Studies indicate that variants in the heparin-binding domain imply a smaller risk of thrombosis than variants in the active area (3,4). The thrombosis guidelines (2020) from the Danish Society for Thrombosis and Haemostasis (DSTH) groups heparin-binding defects regarding antithrombin as an intermediary risk of acquiring venous thromboembolism versus loss of function, which is classified as a high risk. If this discrimination determines the choice of treatment, SERPINC1 should be sequenced, as we cannot make this discrimination by determining the antithrombin activity alone. Here, antithrombin activity will be influenced by heparin incubation time, type of method and the coagulation factor used. Figure 1 illustrates the effect of heparin incubation time and choice of coagulation factor at analysis of antithrombin activity when there are variants in

the heparin-binding or active domain.

Antithrombin variants in the so-called hinge region are at increased risk of forming latent antithrombin (=inactive antithrombin) under particular forms of stress, e.g., fever. Such patients will only have low antithrombin activity under these kinds of stress, and it will therefore be difficult to demonstrate. In these situations, genetic analysis may be indicated in spite of normal antithrombin activity (9).

### Conclusion and perspectives

Antithrombin is the most important anticoagulant protein in the body, and hereditary antithrombin deficiency is associated with a markedly increased risk of venous thromboembolism. Therefore, identification of antithrombin deficiency is a central part of the biochemical thrombophilia examination. As one activity analysis cannot identify all antithrombin defects, we are bound to miss cases of antithrombin deficiency with the presently recommended thrombophilia testing. However, we have not established how often this will happen. For years, one of the authors (SRK) of this paper



**Figure 1.** Illustration of the effect of the heparin incubation period and choice of coagulation factor when analysing antithrombin activity where variants in the heparin-binding or active domain occur. The figure is created with Biorender.com.

has agitated for the use of two functional assays when carrying out a thrombophilia testing, and he has introduced this practice at the departments of clinical biochemistry in Odense and Aalborg, Denmark. At other hospitals in Denmark, it is possible to supplement this examination with another antithrombin activity method at unexplained thrombosis tendency in patients who have had a thrombophilia testing. When the diagnosis antithrombin deficiency has been established, the question arises whether we should identify the cause for it by sequencing SERPINC1. We lack comprehensive studies illuminating the risk of thrombosis associated with different types of defects, despite some knowledge available in the literature. Additionally, we lack knowledge about how patients with defects respond to anticoagulant treatment with heparin.

## References

- Van Cott EM, Orlando C, Moore GW, et al. Recommendations for clinical laboratory testing for antithrombin deficiency; Communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2020;18:17-22.
- The Human Genetic Mutation Database (HGMD). Accessed September 6, 2022. <https://my.qiagendigitalinsights.com/bbp/view/hgmd/pro/gene.php?gene=SERPINC1>
- Alhenc-Gelas M, Plu-Bureau G, Hugon-Rodin J, et al. Thrombophilia G study group on G. Thrombotic risk according to SERPINC1 genotype in a large cohort of subjects with antithrombin inherited deficiency. *Thromb Haemost*. 2017;117:1040-51.
- Kumar R, Bakeer N, Dawson J, et al. Impact of SERPINC1 mutation on thrombotic phenotype in children with congenital antithrombin deficiency-first analysis of the International Society on Thrombosis and Haemostasis pediatric antithrombin deficiency database and biorepository. *J Thromb Haemost JTH*. 2023;21:1248-57.
- Orlando C, Heylen O, Lissens W, et al. Antithrombin heparin binding site deficiency: A challenging diagnosis of a not so benign thrombophilia. *Thromb Res*. 2015;135:1179-85.
- Cooper PC, Coath F, Daly ME, et al.. The phenotypic and genetic assessment of antithrombin deficiency. *Int J Lab Hematol*. 2011;33:227-37.
- de la Morena-Barrio ME, Suchon P, Jacobsen EM, et al. Two SERPINC1 variants affecting N-glycosylation of Asn224 cause severe thrombophilia not detected by functional assays. *Blood*. 2022;140:140-51.
- Ungerstedt JS, Schulman S, Egberg N, et al. Discrepancy between antithrombin activity methods revealed in Antithrombin Stockholm: do factor Xa-based methods overestimate antithrombin activity in some patients? *Blood*. 2002;99:2271-2.
- Beauchamp NJ, Pike RN, Daly M, et al. Antithrombins Wibble and Wobble (T85M/K): archetypal conformational diseases with in vivo latent-transition, thrombosis, and heparin activation. *Blood*. 1998;92:2696-706.
- Kristensen SR, Rasmussen B, Pedersen S, et al. Detecting antithrombin deficiency may be a difficult task – more than one test is necessary. *J Thromb Haemost*. 2007;5:617-8.



# cobas®

## cobas® Mass Spec solution

Enter a new dimension in mass spectrometry



### Full automation

from sample preparation to  
result interpretation with random  
access operation



### Seamless integration\*

into clinical chemistry and  
immunochemistry testing as part of  
**cobas® pro** integrated solutions,  
as well as lab automation & IT

Fully integrating mass spectrometry



\*At launch, cobas® Mass Spec solution is available in a single configuration <cobas pro SSU | i 601>. All other configurations will be available later.

Roche Diagnostics AS, Flaskehalsen 17, 4th floor, 1799 Copenhagen, Denmark

For more information in regards to this solution, scan the QR code.



## High throughput

to fit the needs of the routine laboratory for fast and predictable turnaround times - up to 100 injections per hour



## Broad assay menu

consolidated on a single platform with standardized performance traceable to reference methods, >60 analytes planned in staggered waves

# Mass spectrometry into the routine laboratory

# The IFCC-IUPAC's Nomenclature for Properties and Units (NPU) in Scandinavia

Steen Antonsen<sup>1</sup>, Erik Koldberg Amundsen<sup>2,3</sup>, Rebecca Ceder<sup>4</sup>, Karin Toska<sup>2</sup>,

Mette Christophersen Tollånes<sup>5,6</sup>, Young Bae Hansen<sup>7</sup>, Gunnar Nordin<sup>8</sup>

<sup>1</sup> Department of Clinical Biochemistry, Odense University Hospital, Svendborg Sygehus, Denmark

<sup>2</sup> Department of Medical Biochemistry, Oslo University Hospital, Oslo, Norway

<sup>3</sup> Department of Life Sciences and Health, Oslo Metropolitan University

<sup>4</sup> Inera AB, Stockholm, Sweden

<sup>5</sup> Norwegian Organization of quality improvement of laboratory examinations (Noklus), Haraldsplass Deaconess Hospital, Bergen, Norway

<sup>6</sup> Department of Global Public Health and Primary Care, University of Bergen, Norway

<sup>7</sup> Department of Clinical Biochemistry, North Zealand Hospital, Hillerød, Denmark

<sup>8</sup> Equalis AB, Uppsala, Sweden

steen.antonсен@rsyd.dk



*Standardization of terminology within laboratory activities is of major importance for electronic communication, both nationally and – in the future – internationally, as well as for re-use and understanding of stored laboratory data.*

*In Scandinavia, the NPU classification was introduced 25 years ago for this purpose. Consequently, one might expect Scandinavian biochemical laboratories to be well prepared for this task. However, the reality is more complex.*

The history of the IFCC-IUPAC's Nomenclature for Properties and Units (NPU) terminology was described by Dybkær and Petersen some years ago in *Klinisk Biokemi i Norden* (1) and recently with focus on differences in the current use of NPU among the Scandinavian countries (2).



Here, based on our paper in eJIFCC (2), we discuss some major issues regarding NPU implementation and use in Denmark, Norway and Sweden. We also propose future directions for selecting and governing terminology systems in order to facilitate electronic exchange of laboratory healthcare data at national and international levels.

## The NPU terminology

NPU is an international laboratory terminology with the purpose of providing descriptions (NPU codes) of measurands to present what is being measured in the patient and its values (3,4,5). The ownership and intellectual property rights of NPU terminology are shared between the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) and the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). The NPU nomenclature identifies measurands by a formal definition structure identified with a code: NPUxxxx: System, Component,

Kind-of-property and Measurement unit (5). Stability of NPU codes over time is another characteristic often emphasized by the NPU organisation. National codes have the same structure as NPU codes but might not follow the strict rules of the NPU terminology. Local codes are not regulated or coordinated.

### **Administration of the NPU terminology**

The strategic development of NPU is handled by the Steering Committee with representatives from the owners: IFCC and IUPAC (5). The international NPU terminology database is at present managed by the Danish Health Data Authority (Sundhedsstyrelsen). This administration takes on the roles as both the International NPU Release Centre and the Danish National NPU Release Centre (1). Also, in Norway and Sweden, as in other countries using the NPU terminology, National NPU Release Centres support the implementation process by translating English terms into national languages, assigning National Short Names (trivial names) to NPU codes, and establishment of national codes.

### **Introduction of NPU**

The involvement of authorities in introduction of NPU has varied among the Scandinavian countries, table 1. The Danish Health Authority recommended the NPU terminology as the national laboratory terminology for reporting laboratory results in 2001, as did the Danish Society of Clinical Biochemistry (DSKB). Today biochemistry, immunology and genetics use NPU for electronic communication of requests and results, while pathology use PatoSNOMED and microbiology in Denmark use a national classification (MDS) (2).

In Norway it was The Directorate of Health that chose the NPU terminology as a central part of "Norsk laboratoriekodeverk" (NLK), which was first published in January 2012. NLK was developed as a national terminology for reporting laboratory test results after a governmental decision in 2004 (6). Its use has been recommended since 2014, and for reimbursement it has been mandatory since 2018. The Directorate of Health is serving as the Norwegian National NPU Release Centre.

In Sweden no national authority has made any decisions or recommendations about use of a specific terminology. A Nomenclature Group appointed by the Swedish Society for Clinical Chemistry (SFKK)

made the first translation of the NPU terminology into Swedish in the late 90's and recommended its use. In 2000 the management of the NPU terminology was located to Equalis, which was considered well suited for the professional development and management of the NPU terminology because of the experts in various fields of laboratory medicine assigned to Equalis. Despite some initial funding issues, Equalis is still serving as the National Release Centre for the NPU terminology in Sweden (2,7) and its use is financially supported by the local regions in charge of the health care system in Sweden.

### **Use of NPU**

The NPU terminology was designed for reporting results of laboratory investigations (5). However, it is used for electronic communication of laboratory health data, which is a broader concept, requiring possibilities for encoding more information than offered by the NPU terminology. This is probably the main - although not the only - reason for the widespread use of local codes in all the Nordic countries. In Denmark, a national database with lab results and access to own results by all citizens was established in 2003, and in 2006 MedCom launched a national database for lab requests. Both initiatives have drawn attention to the unrestricted and uncoordinated use of local codes in Denmark, where a recent inventory estimated the use of >3500 local codes (2).

Many of the Danish local codes are probably caused by lab professionals wanting to communicate more details of the analytical result to the recipients, than the NPU terminology allows for. NPU was developed with the ambition, that when discrepancies between results due to methodological or calibration issues were demonstrated, this would drive development towards standardization and better compliance. This optimistic goal - despite more than 25 years having elapsed - is still not fulfilled.

In Norway and Sweden local codes are used only locally within regions. In Sweden results are sometimes communicated outside the region without NPU codes or with local codes. Such results are never merged with results based on NPU codes, but might be merged with other results based on the same test name and unit. In Norway NLK is widely used on national level due to reimbursement (table 1). Some LIMS are capable of handling more codes per quantity, making it possible to report results locally with

Subject	Denmark	Norway	Sweden
<b>Introduction of NPU - year</b>	2001	2012 with the first version of NLK	During the years 2010-2015
<b>Introduction of NPU decided or recommended by</b>	Recommended by The Danish Health Authority (Sundhedsstyrelsen) the Danish Society of Clinical Biochemistry (DSKB).	Decided by the Norwegian Directorate of e-Health	Recommended by the Swedish Society of Clinical Biochemistry (SFKK).
<b>National NPU release center location</b>	the Danish Health Data Authority	The Norwegian Directorate of Health	Equalis – the Swedish organization of external quality assessment in laboratory medicine.
<b>Use of NPU for requesting</b>	Yes, on national level since 2006	Yes, however only locally	Yes, however mainly locally.  Patients suffering chronic diseases monitored by lab. tests can use a national service for ordering and planning laboratory requests by themselves. The service uses NPU codes for requests (The service is called 1177 egen provhantering)
<b>Use of NPU for reimbursement</b>	No	Yes, for tests requested by primary health care and hospital out-patient clinics	No
<b>National portal including laboratory results</b>	Since 2003; access for both citizens and healthcare professionals	Under development. Expected implementation during 2025	Since 2014 with access for healthcare professionals  Since 2016 with access for citizens (on 1177.se)
<b>National codes</b>	303 (only 1/3 is used by clinical biochemistry)	1612	415
<b>Local codes</b>	>3500  Are used nationwide	Number unknown  Probably often used locally	Number unknown  Probably often used locally
<b>Additional classifications (apart from National short Names)</b>	No.	Yes,  Classifications for Specimen material, Specimen source Measurement method Text results	Yes.  Classifications for Methodology, Specimen and Anatomical location

**Table 1.** Introduction, administration and use of the IFCC-IUPAC's Nomenclature for Properties and Units (NPU) in Denmark, Norway and Sweden.

local codes and nationally with NLK codes at the same time. In 2025 a national database for laboratory and radiology reports will be launched (Pasientens prøvesvar) in Norway. In time, this is expected to allow clinicians and patients access to tests results from any Norwegian laboratory. Results reported with local codes will be shown in this system, but can of course not be merged with results reported with NLK codes. As a result, we can hope for an increased focus on compliance with NLK in the coming years, although this has not been the case in Denmark.

### Strengths and limitations of NPU

NPU codes are used for requisition of most biochemical quantities without problems. But NPU cannot express requisition of more complicated investigations, as e.g. ordering algorithms or make use of synonyms (e.g. commercial names of drugs rather than the pharmacologic names as an ordering option for the clinician). Furthermore, anatomical collection site or detailed information about the specimen, which often

is needed in microbiology and pathology, cannot be described by the NPU terminology.

The main strength of the NPU terminology is that the NPU codes are unique and unambiguous. They are stable over time as they do not include method principles or procedures in the codes, which constantly evolves due to the technological method development.

Codes including methodology or suppliers will be used only temporarily, and eventually be replaced with other codes. However, NPU codes have already to some extend been supplemented with national codes and with numerous local codes, especially in Denmark, to overcome these shortcomings (table 1). Thus, the Scandinavian laboratories are already working with supplementary codes or a large number of local codes. This suggests that laboratory professionals do not fully accept the argument for maintaining code stability over time. Instead, they appear to prioritize the need for complete information when reporting results or ensuring accurate test requests. The “cost” of this, is lack of comparability



Vanlig björnmossa (*Polytrichum commune*) inbäddad i ett istäcke. Foto: Henrik Alfthan.

of test results over time and between regions. The latter leads to a need to synchronise local codes for regional exchange of results, as there is a risk that a message with a local code might be misinterpreted or not accepted by some clinical systems. In regional and national IT-systems use of local codes may lead to confusion when results for the same measurand from several laboratories are shown.

Thus, the use of local codes for extended periods should be minimized. To achieve this goal, it must be considered whether communicating methodological differences of results should be addressed by 1) expanding of the NPU terminology itself, 2) implementing supplementary classifications or 3) switching to alternative laboratory coding systems.

### **Supplementation of NPU**

In Norway the Directorate of health has published supplementary tables for Specimen material, Anatomical location, Text results and recently also for Measurement method (8) and laboratories are encouraged to use the terms as described in the tables. In the national portal for laboratory results, measurands reported with the same NLK code but different method codes are planned to be presented on different lines. This of course will take some time to implement, as LIMS currently lack the possibility to report method codes and as local/regional clinical systems do not necessarily support the use of method codes yet. In Sweden supplemental classifications (using SNOMED CT) of specimen, anatomical location and methodology has been applied for the GLOO4 service agreement for laboratory results, which is implemented in some regions and planned to be implemented nationwide. In Denmark, it is currently discussed whether such classifications ought to be developed and how they should be structured (9).

### **Alternative to NPU**

The LOINC terminology (10), which is used in many countries, have many similarities with NPU, from which it originally stems, but also some principal differences (11). One is that LOINC does not prescribe a specific measurement unit to be used to report a result. This is handled by using the system Unified Code for Units of Measure (UCUM) to describe the unit, which allows information systems to convert results from one unit to another.

Another feature of the LOINC system is, that the term “System” is used to denote specimen type instead of the metrological system as in the NPU system. Upon request from users, information about measurement method and specimen can also be included, or pre-coordinated, in a unique LOINC code.

The more pragmatic approach within the LOINC system, which allows the user to use multiple units for the same LOINC code, and to some extent specify sample material and method types within unique LOINC codes, is no doubt appreciated by some users. However, the rapidly increasing number of LOINC codes driven by the need to include increasing non-structured information on specimen and method types, will make the system less and less comprehensible and calls for careful regulation of use of codes to ensure harmonization.

### **Discussion and recommendations**

We suggest for both the LOINC and NPU system, that the necessary information about “how” a measurement is done (such as used specimen type and measurement method) is modelled in fields separate from the information about “what” is measured. This is also the way forward suggested within the X-eHealth project (12) for sharing health care data in the European Health Data Space. The suggested model will be described in a FHIR profile for the exchange of laboratory data (13). Furthermore, we recommend shared Scandinavian classifications based on international classifications, e.g. SNOMED CT for supplementation of the NPU terminology.

If local codes are to be eliminated by a method classification, different methodologies for results of the same measurand should be treated as different and for example displayed in separate lines in cumulative results schemes. The consequence might be numerous lines for each measurand (NPU code), leaving the clinicians uncertain about which results are comparable and which are not. In an attempt to address this issue, it was recently suggested that receiving IT systems should be allowed to merge results produced by different methods that are considered “comparable” (14). Comparability of methods could be an addition to the method codes and maintained by the labs coordinated by the national release centres.

For requesting purposes, supplementary classifications as the Norwegian and Swedish classifications “Specimen material” and “Anatomical

location” including lateralization (8) are necessary. This, is certainly needed for use in microbiology but also to some extent in biochemistry. Furthermore, since laboratories sometimes offer more than one method for the same measurand, it might also be necessary that clinical IT systems and LIMS support the inclusion of method codes with the NPU code for requesting purposes.

Until supplementary classifications are developed and implemented, we recommend a pragmatic approach towards producing national codes in the National Release Centres, even if this occasionally deviates from the principles of the NPU terminology, as national codes are preferable to local codes (2).

Finally, good terminology governance, including substantial participation from laboratory professionals with decision-making authority to lead and guide implementation of the classifications, will be crucial to ensure correct and uniform use of the classifications (2), regardless of whether NPU or LOINC (both with supplementary classifications) are used. Such consistency is vital for unambiguous electronic communication both nationally and internationally.

## References

1. Dybkær R, Petersen UM. Nomenclature for Properties and Units (NPU) Fødsel – Udvikling – Fremtid. KBN 2015;27(1):32-7.
2. Antonsen S, Amundsen EK, Ceder R, et al. History, implementation and current use of the IFCC-IUPAC's Nomenclature for Properties and Units (NPU) terminology in Denmark, Norway and Sweden. eJIFCC, 2024;35(3):154-65.
3. Dybkær R, Jørgensen K. *Quantities and Units in Clinical Chemistry -Including Recommendation 1966 of the Comission on Clinical Chemistry of the International Union of Pure and Applied Chemistry and of the International Federation for Clinical Chemistry*. Munksgaard, Copenhagen (1967)
4. Férid G, Dybkær R, Fuentes-Arderiu X. Compendium of Terminology and Nomenclature of Properties in Clinical Laboratory Sciences, Recommendations 2016, IFCC|IUPAC Silver Book, 2nd edition, RSC Publishing, 2017; <https://doi.org/10.1039/9781782622451>
5. NPU Terminology ([npu-terminology.org](http://npu-terminology.org)) (Accessed 28.09.2024)
6. Stortingsmelding 5 (2003-2004). <https://www.regjeringen.no/no/dokumenter/stmeld-nr-5-2003-2004-/id197375/> (accessed 06.03.2024)
7. Portin C. NPU-terminologi – språket som förenar laboratorier. KBN, 2024;36(3):34-6.
8. FinnKode ([helsedirektoratet.no](https://helsedirektoratet.no)) (Accessed 28.09.2024)
9. Antonsen S: Skal NPU-terminologien suppleres med en metodeklassifikation? DSKB-Nyt 2024;2: 20-1 and KBN 2024;36(3): 37-9.
10. <https://loinc.org/> (accessed 28.09.2024)
11. Bietenbeck A, Boeker M, Schulz S. NPU, LOINC, and SNOMED CT: a comparison of terminologies for laboratory results reveals individual advantages and a lack of possibilities to encode interpretive comments. J Lab Med 2018;42(6):267-75.
12. X-eHealth Deliverable D5.3 - Laboratory Requests and Reports guideline and functional specifications (available from [www.x-ehealth.eu/wp-content/uploads/2022/09/D5.3-Laboratory-Requests-and-Reports-guide-line-and-functional-specifications.pdf](http://www.x-ehealth.eu/wp-content/uploads/2022/09/D5.3-Laboratory-Requests-and-Reports-guide-line-and-functional-specifications.pdf))
13. <https://hl7.org/fhir/> (accessed 28.09.2024)
14. Antonsen S. En Metodeklassifikation til at supplere NPU – Hvordan kan den ”se ud” og bruges? DSKB-Nyt 2024;3:25-7.

# Neutrophil extracellular traps (NETs) – en relativt okänd funktion hos de neutrofila blodkropparna

Anders Larsson



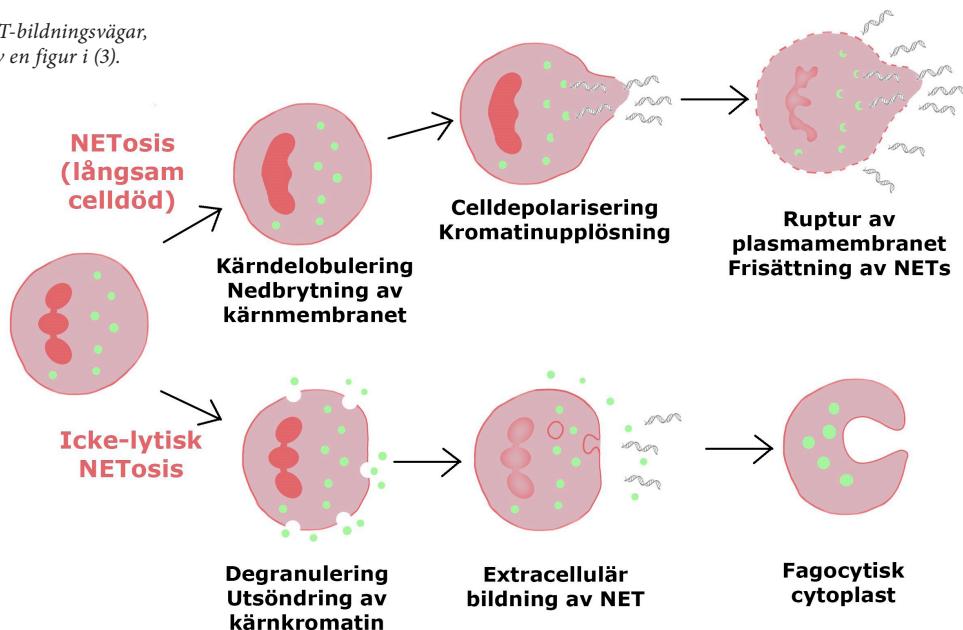
Neutrofila extracellulära fällor (NETs) är nätknande strukturer som frigörs från aktiverade neutrofila vita blodkroppar, och utgör en viktig del i det medfödda immunsystemet. NET består av extracellulära DNA-fibrer med citrullinerade histoner och olika antimikrobiella proteiner. Deras primära funktion är att fånga och döda patogener, inklusive bakterier, svampar, virus och protozoer. Samtidigt kan NETs bildningen också leda till skador i kroppen så NETs kan ha både positiva och negativa effekter.

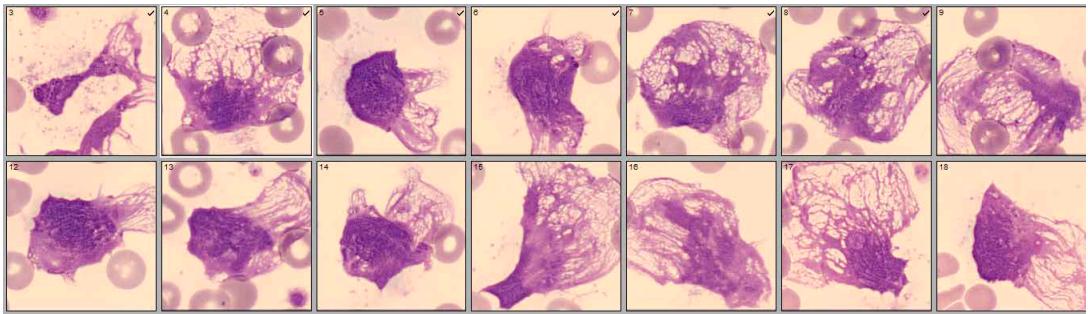
## Upptäckten av NETs och vad de är

Historien om neutrofila extracellulära fällor (NETs) är relativt ung och började 1996 då den första beskrivningen av NETs publicerades. Den banbrytande upptäckten av NETs gjordes av Volker Brinkmann och Arturo Zychlinsky. De beskrev NETs som en nätstruktur

bestående av extracellulära strängar av dekondenserat DNA med citrullinerade histoner och proteaser som kunde fånga och döda mikrober. Initialt studerades NETs främst in vitro. Forskare fann att NETs kunde induceras av olika stimuli som forbolmyristatacetat (PMA), Interleukin-8 (IL-8) och lipopolysackarid (LPS). Man insåg snabbt att NETs spelade en roll utöver att bara fånga bakterier. De fann att NETs också kunde fånga svampar, protozoer och virus. När forskningen fortskred började forskare förstå mekanismerna för NET-bildning bättre. De fann att citrullinering av histoner av peptidyl arginine deiminase 4 (PAD4) var avgörande för NET-bildning in vivo. I slutet av 2000-talet upptäckte också forskare att vissa patogener hade utvecklat mekanismer för att undvika NETs. Vissa bakterier visade sig uttrycka endonukleasen som kunde bryta ned NETs. På 2010-talet började forskare inse att NETs spelade roller utöver bara immunitet. De var inblandade i olika icke-infektiösa tillstånd som autoimmuna sjukdomar, trombotiska sjukdomar och cancer.

Figur 1. NET-bildningsvägar, inspirerat av en figur i (3).





Figur 2. Exempel på hur NETs kan se ut i Cellavision.

### Hur NETs bildas

NETs bildas genom en process som kallas NETosis och som kan triggas av en hel rad olika stimuli. Bildningen av NETs innehåller: aktivering av neutrofilerna och produktion av reaktiva syreradikaler (ROS), frisättning av enzymer som myeloperoxidas och neutrofil elastas, vilka kan angripa omgivande vävnader. Dessutom frisättning av DNA och citrullinerade histoner, som kan fånga upp bakterierna i en sorts nät och hålla kvar dem medan de antimikrobiella proteinerna utför sitt arbete.

### Hur fungerar NETs

NETs oskadliggör mikroorganismer genom att åstadkomma en hög lokal koncentration av antimikrobiella proteiner såsom neutrofil elastas, cathepsin G och histoner som har hög affinitet för DNA.[4] Dessa antimikrobiella komponenter binder och dödar mikrober extracellulärt, och således oberoende av fagocytiskt upptag hos neutrofilen. Utöver att besitta antimikrobiella egenskaper kan NETs även fungera som en fysisk barriär som förhindrar ytterligare spridning av patogener.

Enligt litteraturen så kan neutrofilerna kasta ut sitt kärnинnehåll i form av NETs och sedan återforsluta sig och fortsätta cirkulera i blodbanan (1). Vi har då en neutrofil med lite kärna kvar eller ingen kärna alls. Sådana celler måste vara svårtypade både i våra cellräknare och vid manuell mikroskopgi, och kanske bidrar till de atypiska neutrofiler som kan ses vid sepsis/Covid infektioner. När vi tittar på celler i blodutstryk pratar vi om smudge cells, eller på svenska smetceller (2). Det är celler som saknar intakt kärna och ser ut som diffusa utsmetade fläckar på mikroskopiglaset. Traditionellt så bildas smudge cells pga. mekanisk stress då cellerna går sönder då vi gör bloduttrycket. Det är givetvis korrekt men samtidigt

så innebär upptäckten av NETs att vi sannolikt även kan få smudge cells pga. NETs aktivering. De vanliga smudge cellerna bildas i första hand från kronisk lymfatisk leukemi (KLL) celler medan NETs bildas från neutrofilerna. Det har till och med föreslagits att man skulle kunna använda tex Cellavision instrument för att identifiera NETs direkt i blodutstryk (2). Det skulle då vara en metod som är mer laboratorieanpassad än många andra metoder för att mäta NETs. Frågan är dock hur specifik metoden är och hur den står sig mot neutrofilaktiveringsproteiner som tex calprotectin.

### NETS skadliga effekter

NETs är viktiga för att försvara oss från infektioner, men frisättningen av NETs kan också skada omgivande vävnader (3). Enzymer som neutrofil elastas och myeloperoxidas kan bryta ner extracellulära matrixproteiner och cellulära strukturer. Effekterna av elastasfrisättning blir mycket tydliga hos patienter med alfa-1-antitrypsin brist. Alfa-1-antitrypsin inaktiveras det frisatta elastaset i bland annat lungorna. Patienter med alfa-1-antitrypsinbrist får en för hög elastasaktivitet som leder till nedbrytning av lungvävnaderna och försämrad lungfunktion. På sikt leder skadorna till behov av kontinuerlig syrgasbehandling och behov av lungtransplantationer eller död. NETs/neutrofilaktivering kan leda till nedsatt njurfunktion och ökad frisättning av troponiner från hjärtat som tecken på hjärtmuskelskada. De citrullinerade histonerna har cytotoxiska effekter på närliggande celler och NET-bildningen innehåller produktion av ROS, vilket kan orsaka oxidativ vävnadsskada.

NETs kan förvärra inflammation genom några olika mekanismer. Bildade NETs kan utlösa bildningen av sekundära NETs, vilket skapar en positiv återkopplingsloop som förstärker inflammationen. NETs frigör

damage-associated molecular patterns (DAMPs) som HMGB1 och mitokondriellt DNA, vilka stimulerar inflammatoriska svar ytterligare. NETs kan också stimulera frisättning av proinflammatoriska cytokiner från omgivande celler. Utöver de direkta skadeeffekterna av NETs, så kan NETs även störa den normala sår läkningsprocessen. Vid respiratoriska sjukdomar bidrar NETs till luftvägsobstruktion och nedsatt mukociliär clearance och kronisk NETs bildning kan leda till överdriven kollagenbildning och fibros.

### NETS kan utlösa autoimmunitet

NETs kan också utlösa autoimmuna reaktioner (4). NET-komponenter som MPO och proteinas 3 kan fungera som autoantigener, vilket potentiellt leder till utveckling av autoantikroppar. NETs kan interagera med autoantikroppar för att bilda immunkomplex, vilket ytterligare driver inflammation och vävnads skada. Det här gör att det kan finnas ett särskilt intresse för NETs som markör vid autoimmuna sjukdomar inklusive reumatoid artrit (RA). Under de senaste åren har neutrofilernas roll för reumatoid RA lyfts som en viktig del i sjukdomsutvecklingen. Antikroppar mot (cykliska) citrullinerade peptider (anti-CCP) är ju numera standardtestet för RA delvis på bekostnad av reumafaktortester. Anti-CCP antikroppar bildas som svar på ett immunogen i kroppen och den främsta källan till citrullinerade immunogen är frisatta citrullinerade histoner från neutrofila vita blodkroppar.

### Biomarkör för monitorering av NETs?

När vi pratar om NETs så är analys av citrullinerade histoner i plasma ett naturligt alternativ. Problemet är att analyser för citrullinerade histoner för närvarande är mikrotiterplattebaserade och sannolikt ganska dåligt standardiserade mellan leverantörer. Anti-CCP antikroppar reagerar klart olika beroende på vilken citrullinerad peptid som används som antigen. Det borde innehålla att antikroppar mot citrullinerade histoner som ingår i testsystem också kommer att ha olika reaktivitet vilket kan skapa problem om vi skall införa dessa tester som rutinmetoder.

Eftersom i princip hela neutrofilens innehåll töms vid NETs bildningen, så skulle man kunna tänka sig att använda en hel rad av de proteiner som finns i neutrofilens cytoplasma eller i dess granulae (Tabell 1). Vilken av markörerna som är mest lämpad för monitorering av NETs bildning får framtiden utvisa. Det kommer också vara lite beroende på vilka indikationer som blir

de mest intressanta. Är det främst autoimmuna sjukdomar, så har vi relativt gott om tid innan vi behöver rapportera svaren, och vi har då en större möjlighet att välja analysinstrument. Om fokus istället är på sepsis/infektioner så krävs det snabba svar. Enligt en tidigare publicerad studie så är mortaliteten vid sepsis under de första 12 timmarna cirka 1% för varje 5 min försening av behandlingen (5). Med sådana siffror är det svårt att motivera mikrotiterplattebaserade analyser med kanske en veckas svarstid pga att vi vill fylla plattan med prover. Det förefaller troligt att intensivvårdsavdelningarna snarare vill ha 24/7 tillgänglighet och svar inom en timme. Det innebär att vi skulle behöva få in analyserna på våra rutininstrument. Av neutrofilproteinerna är det sannolikt bara calprotectin och kanske lipocalin 2 som frisätts i så höga koncentrationer att vi kan analysera dem med partikelförstärkta immunmetoder på vanliga kemianalysatorer.

### Exempel på sjukdomar där NETs kan ha betydelse

De två huvudsakliga formerna av inflammatoriska tarmsjukdomar (IBD) är Crohns sjukdom och ulcerös kolit (UC). Crohns sjukdom yttrar sig kliniskt som gastrointestinala störningar, men är en systemisk sjukdom med inflammation i ileum och kolon, medan UC främst ger upphov till inflammation i kolon. Numera analyserar de flesta sjukhuslaboratorier calprotectin i faeces som markör för IBD. Vi har nog mest tänkt på det som en neutrofilmärkör, men det skulle lika väl kunna ses som en NETs markör.

Några exempel på autoimmuna sjukdomar där NETs kan få en plats är RA, som kännetecknas av ihållande synovial inflammation som resulterar i skador på brosk och ben. Synovialvätskan i RA-patienters ledar infiltreras av neutrofiler som bildar stora mängder NETs. Analys av calprotectin i ledvätskor visar på mycket höga nivåer av calprotectin och flera patienter har koncentrationer över 100 mg/L. Studier har visat att cirkulerrande neutrofiler hos RA-patienter lättare stimuleras till NETosis jämfört med friska personer. Precis som vid andra autoimmuna tillstånd fungerar NETs som en källa till extracellulära autoantigen, vilket förstärker immunsvaret i lederna och bidrar till vävnadsskador.

Systemisk lupus erythematosus (SLE) kännetecknas av immunkomplex och höga nivåer av IFN- $\alpha$  samt aktivering av autoreaktiva B-celler. Autoantikroppar kan potentiellt bildas mot nukleinsyror och citrullinerade histoner som frisätts av neutrofiler som genomgår NETosis, vilket skapar immunkomplex som driver

autoimmuna och inflammatoriska processer.

Psoriasis är en kronisk immunmedierad sjukdom. Studier visar att neutrofiler rekryteras till psoriasisisskador där de producerar proinflammatoriska cytokiner som tex IL-6 och IL-17. IL-17 i keratinocyter ökar uttrycket av defensiner som medierar NET-bildning. Dessa inflammatoriska ämnen har visat sig främja NETosis.

Gikt är en autoinflammatorisk sjukdom som kännetecknas av deposition av urat-kristaller i ledar, vilket stimulerar immunsvär genom att attrahera leukocyter och inducera NETs som bidrar till inflammationen.

NETs spelar en betydande roll för cancerutveckling och metastasering genom att skapa en mikrocellulär miljö som gynnar tumörtillväxt och metastasering samtidigt som NETs kan hämma immunförsvaret mot tumörcellerna (5). NETs innehåller molekyler som neutrofil elastas (NE), myeloperoxidas (MPO), och andra proteaser, vilka kan stimulera cancerassocierade signalvägar. NETs kan också skapa en fysisk barriär runt tumörceller och skydda dem från immunförsvaret. Proteiner i NETs, såsom histoner och NE, kan förändra kärväggarnas integritet, vilket gör det lättare för tumörceller att lämna blodomloppet och kolonisera nya vävnader. NETs frisätter molekyler som dämpar T-cellers och NK-cellers aktivitet, vilket minskar kroppens immunförsvär mot tumörceller. NETs innehåller angiogena faktorer, såsom VEGF (vascular endothelial growth factor), som kan stimulera bildandet av nya blodkärl. Detta förbättrar tumörens tillgång till syre och näring, vilket gynnar tumörtillväxt. Sammanfattningsvis kan vi konstatera att NETs kan bidra till cancerutveckling via flera olika mekanismer. Genom att förstå mekanismerna bakom NETs bildningen kan läkemedelsbolagen sannolikt utveckla riktade terapier för att minska NET-inducerad vävnadsskada vid olika patologiska tillstånd. Det kan röra sig om hämning

av NETs bildningen, nedbrytning av bildade NETs, blockering av specifika proteiner i NETs eller modulering av neutrofilaktiviteten. Alla alternativen är sannolikt möjliga.

Sammanfattningsvis, även om NETs är viktiga för kroppens försvar mot patogener, kan deras dysreglering bidra till en rad olika patologiska tillstånd. Att förstå balansen mellan NETs skyddande och skadliga effekter är avgörande för att utveckla riktade behandlingar för NET-relaterade sjukdomar.

## References

1. Nauseef WM, Kubes P. Point-Counterpoint: Pondering Neutrophil Extracellular Traps (NETs) with healthy skepticism. *Cell Microbiol.* 2016;18:1349–57.
2. Fedorov K, Baruqa M, Yin D, et al. Identifying Neutrophil Extracellular Traps (NETs) in blood samples using peripheral smear autoanalyzers. *Life (Basel).* 2023;13:623.
3. Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat Rev Immunol.* 2018;18:134–47.
4. Wang N, Shi XL, Li D, et al. Neutrophil extracellular traps - an a-list-actor in a variety of diseases. *Ann Hematol.* 2024;103:5059–69.
5. Funk DJ, Kumar A. Antimicrobial therapy for life-threatening infections: speed is life. *Crit Care Clin.* 2011;27(1):53–76.
6. Xia M, Han Y, Sun L, et al. The role of neutrophils in osteosarcoma: insights from laboratory to clinic. *Front Immunol.* 2024;15:1490712.

Cytosolic proteins:	Specific granules:	Azurophil granules:	Gelatinase granules:
Calprotectin/S100A8/A9	Lactoferrin Lipocalin 2/Neutrophil gelatinase-associated lipocalin/Human neutrophil lipocalin	Myeloperoxidase Heparin-binding protein/ Azurocin Cathepsin G Elastase Proteinase 3 Defensins	Cathelicidin Gelatinase B

**Tabell 1.** Några viktiga proteiner som frisätts från neutrofila blodkroppar vid NETs bildning. Proteinerna har sina engelska namn för att underlätta om ni vill söka vidare om individuella proteiner.

## EWMA

# EWMA til overvåkning av nivåforskjell mellom to analyseinstrumenter

Arne Åsberg<sup>1</sup>, Bjørn Johan Bolann<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Avdeling for medisinsk biokjemi, St. Olavs Hospital, Trondheim, Norge

<sup>2</sup>Klinisk institutt 2, Universitetet i Bergen, Bergen, Norge

arne.aasberg@stolav.no

bjorn.bolann@uib.no



## Bakgrunn

De store laboratoriene i helsevesenet bruker gjerne mer enn ett instrument til måling av samme analytt. Årsaken er kapasitetsbegrensninger per instrument og et ønske om bedre sikkerhet mot driftsavbrudd enn det som bare ett instrument kan gi. En ulempe er at nivåforskjeller mellom instrumentene gir en tilsynelatende økt upresisjon når prøver fra samme pasient blir analysert på det ene eller det andre instrumentet. Denne økningen i upresisjon kan beregnes (1). Hvis man antar at to analyseinstrumenter for samme analytt har samme upresisjon, og at prøver fra en viss pasient har samme sannsynlighet for å bli analysert på det ene eller det andre instrumentet, vil en nivåforskjell på 1 analytisk standardavvik ( $s_a$ ) medføre en økning i opplevd, langtids upresisjon på 12 % (til  $1,12 \times s_a$ ). Tilsvarende vil en nivåforskjell på 1,5  $s_a$  gi en økning på 25 % og en nivåforskjell på 2  $s_a$  vil øke opplevd upresisjon med 41 %. Tradisjonelt har laboratoriene tilstrebet en nivåforskjell mindre enn 1  $s_a$  eller mindre enn 1 analytisk variasjonskoeffisient ( $VK_a$ )

Tilstrekkelig liten nivåforskjell mellom instrumentene sikres ved at hvert instrument kalibreres til samme nivå. Noen laboratorier vil i tillegg overvåke nivåforskjellen direkte med analysering av det samme

prøvematerialet på begge instrumentene. For eksempel anbefaler International Council for Standardization in Haematology (ICSH) bruk av "fresh patient specimens (<12 h old)" til "inter-instrument comparisons" av celletellere, minst daglig (2). Hvordan dette i praksis skal foregå, omtales ikke.

Den målte nivåforskjellen mellom de to instrumentene kan betraktes som en kontrollverdi og behandles med vanlige regler for kvalitetskontroll (3). Problemet er bare at vanlige regler for kvalitetskontroll har svært begrenset evne til å påvise en nivåforskjell så liten som 1  $VK_a$ . I dette tilfellet forverres problemet ved at upresisjonen i forskjellen mellom to instrumenter påvirkes av upresisjonen hos begge. Gjennomsnittet til forskjellen bør være 0, mens VK til forskjellen er:  $VK_d = (VK_{a1}^2 + VK_{a2}^2)^{0.5}$ . Hvis instrumentene har lik  $VK_a$  og den samme pasientprøven måles bare én gang med hvert instrument, blir  $VK_d = 1,414 VK_a$  og  $VK_a = 0,7071 VK_d$ . Så hvis man definerer den største tillatte forskjellen som 1  $VK_a$ , er det det samme som 0,7071  $VK_d$ . Og siden det er forskjellen vi overvåker, skal vi altså i dette tilfellet påvise et avvik ned mot 0,7071 ganger prosessens VK. Det er håpløst vanskelig med vanlige kontrollregler.

Siden 1959 har eksponentielt vektet bevegelig gjennomsnitt, på engelsk exponentially weighted moving average, forkortet til EWMA, blitt brukt til å overvåke små nivåendringer i prosessindustrien (4). EWMA er omtalt i litteraturen i vårt fagområde (5, 6), men brukes lite i praksis. Dels kan dette skyldes at vi ønsker å påvise et endret nivå i det samme run som endringen oppstår, mens EWMA-baserte kontrollregler trenger flere run for å virke. Dels kan det skyldes at opprettelsen av EWMA-baserte kontrollregler virker

komplisert, og at laboratoriene har manglet datamaskinprogrammer for praktisk bruk av reglene. En tredje hindring kan være at ytelsen til EWMA-baserte kontrollregler uttrykkes i gjennomsnittlig antall run (gjennomsnittlig run-lengde, ARL) fra nivåendring til alarm. Denne størrelsen virker fremmed i vårt fagmiljø og kan ikke så lett oversettes til sannsynligheter for alarm, som er det vi vanligvis forholder oss til.

Enda en faktor kompliserer saken: Til EWMA-regler brukes vanligvis et stabilt kontrollmateriale med kjent gjennomsnittsnivå og forhåndskalkulert VK. Hvis vi ønsker å benytte pasientprøver med begrenset holdbarhet, som anbefalt av ICSH, må vi bruke en ny pasientprøve hver dag. Siden innholdet i dagens pasientprøve ikke er det samme som i går-dagens prøve, kan vi ikke bruke forskjellen direkte. Men vi kan regne forskjellen om til en prosentverdi av én av målingene eller av gjennomsnittet. Hva blir mest riktig i forhold til den forhåndskalkulerte VK?

Vi foreslår her en forenklet metode for opprettelse av EWMA-regler til kontroll av forskjellen mellom to analyseinstrumenter, og viser hvordan antall run til alarm kan tolkes som en sannsynlighet. Vi viser også at observerte forskjeller bør registreres som prosent av gjennomsnittsverdien av de to målingene.

## Metoder

### EWMA

EWMA er definert slik:  $z_t = \lambda \times x_t + (1 - \lambda) \times z_{t-1}$ , der  $x_t$  er det siste ("dagens" eller "run-ets") resultat og  $z_{t-1}$  er det forrige EWMA. Faktoren  $\lambda$  vekter det siste resultatet mot alle de foregående. Hvis for eksempel  $\lambda$  er 0,2, får det siste resultat den vekten, mens de foregående får vektene 0,16, 0,128, 0,1024 og så videre (4). Summen av vektene er alltid 1. EWMA-verdien må jo også starte et sted. Det vanlige er å velge  $z_0$  = sant gjennomsnitt, så her blir forhåpentligvis  $z_0$  = 0 (ingen forskjell mellom instrumentene). Hvis EWMA for hvert run baseres på 1 måling av prøvematerialet, går standardavviket for EWMA mot grenseverdien  $s_z = s_d \times (\lambda / (2-\lambda))^{0.5}$  når antall run går mot uendelig (4). Skal man ta hensyn til det, blir kontrollopplegget temmelig komplisert. I likhet med Neubauer (5) og Linnet (6) forsår vi at man bruker grenseverdien for  $s_z$  til opprettelse av EWMA-reglene.

Alarmingrensene for EWMA-baserte kontrollregler er vanligvis: sant gjennomsnitt  $\pm (L \times s_z)$ , der typiske verdier for L er i området 2-3 (5). Vi foreslår at man heller bruker alarm-grensene: sant gjennomsnitt  $\pm$

(største tillatte forskjell -  $1.28 \times s_z$ ). Da defineres prosessen til å være under kontroll så lenge 80 % konfidensintervallet rundt det bevegelige gjennomsnittet er innenfor sant gjennomsnitt  $\pm$  største tillatte forskjell. Det tilsvarer kontrollregler med 90 % sannsynlighet for å påvise største tillatte systematiske feil (7).

EWMA-baserte kontrollregler må ha en definert  $\lambda$ . Man må velge  $\lambda$  slik at ARL blir forholdsvis stor hvis prosessen fungerer som normalt ( $ARL_0$ ) og forholdsvis liten hvis det inntreffer en feil lik største tillatte nivåforskjell ( $ARL_{STF}$ ). Til beregning av ARL trenger man et simuleringsprogram (5).

## Simuleringer

Vi laget et skript for programmet Statistics101 (versjon 5.8), en "resampling simulator" som er kostnadsfritt tilgjengelig under lisens GLPV3 (8). Skriptet er listet i tillegg 1. Hver simulering var basert på 100 000 repeterete forsøk, og under antakelse av gaussfordelte analyseresultater. I hvert forsøk var det tatt høyde for en run-lengde på inntil 10 000. Tolv scenarier ble simulert: Tre ulike antakelser om største tillatte forskjell mellom analyseinstrumentene (1, 1,5 og 2 VK<sub>a</sub>), to ulike antakelser om  $ARL_0$  (100 og 370) og to ulike feilsituasjoner (ingen feil og en nivåforskjell lik største tillatte forskjell).  $ARL_0$  lik 100 og 370 tilsvarer sannsynligheter for falsk alarm på henholdsvis 1/100 = 0,01 og 1/370 = 0,0027 hvis det er tale om en vanlig kontrollregel med oppstelling av resultater utenfor visse grenser, som for eksempel regelen 1 3s N=1, der  $ARL_0 = 370$ . Slik kan man ikke regne for EWMA-baserte kontrollregler, fordi de enkelte EWMA ikke er uavhengige av hverandre, men det gir en pekepinn om hva EWMA-reglene yter. For å illustrere yteevnen til kontrollreglene plottet vi kumulert fordeling av antall run til alarm i forsøk der en forskjell lik den største tillatte nivåforskjellen inntraff i begynnelsen av hvert forsøk. Da får man et inntrykk av yteevnen til EWMA-baserte kontrollregler i situasjoner der man vil ha alarm så fort som mulig, tilsvarende  $P_{ed}$  for vanlige kontrollregler. Dette ble gjort for to scenarier (største tillatte forskjell 1 og 2 VK<sub>a</sub> kombinert med  $ARL_0$  lik henholdsvis 100 og 370). Med programmet Stata, versjon 18, laget vi et skript for å vurdere hvor godt observert VK<sub>a</sub> stemte overens med forhåndskalkulert VK<sub>d</sub> om instrumentforskjellene ble registrert som prosent av én av målingene eller som prosent av gjennomsnittet. En million simulerte verdisett ble laget.

## Resultater

Med Statistics101-skriptet innstilt for å etterprøve resultatene i Table 1 i artikkelen til Neubauer (5), fikk vi bra overensstemmelse.

Med skriptet innstilt etter vårt forslag til alarmgrenser, fikk vi de resultatene som er gitt i tabell 1. Figur 1 og 2 viser kumulerte fordelinger av antall run til alarm for de to ulike scenariene som er nevnt over. Tabell 2 viser resultater fra simulering av forskjellenes  $VK_d$  etter at forskjellene ble registrert på de to måtene som er nevnt over, sammenlignet med en forhåndskalkulert verdi på 5 %. Minst avvik fra 5 % ble observert da forskjellen ble registrert som prosent av gjennomsnittet av begge resultatene.

## Diskusjon

EWMA-baserte kontrollregler legger mest vekt på det nyeste resultatet og tiltakende mindre vekt på

de eldre resultatene. Det passer ikke helt med tankegangen bak daglig kvalitetskontroll, der dagens resultater er enerådende, men det virker ikke urimelig hvis man ser etter vedvarende, små nivåendringer. EWMA-baserte kontrollregler er bedre enn både enkle regler og multi-regler til å oppdage systematiske feil mindre enn 2-3 standardavvik (6). Ser man etter veldig små avvik, må man vente noen run til EWMA-signalet har fått tid til å utvikle seg. I de fleste situasjoner der vi har bruk for EWMA-regler kan man tenke at 1 run = 1 dag.

Hvor lenge må man vente? Det avhenger av scenariet, det vil si av hva som er den største tillatte forskjellen mellom analyseinstrumentene og hvilken  $ARL_0$  man kan akseptere, se tabell 1. Figur 1 viser den kumulerte fordelingen av antall run til alarm i 100 000 forsøk etter at det ved begynnelsen av hvert forsøk oppstod en nivåforskjell som var

Største tillatte forskjell (STF) som multiplum av $VK_a$ og $VK_d$		$ARL_0 = 100$		$ARL_0 = 370$	
$VK_a$	$VK_d$	$\lambda$	$ARL_{STF}$	$\lambda$	$ARL_{STF}$
1	0,7071	0,0845	11,2	0,06505	16,2
1,5	1,0607	0,1614	6,4	0,1287	8,8
2	1,4142	0,2550	4,3	0,2084	5,7

**Tabell 1** viser hvilken  $\lambda$ -verdi en EWMA-basert kontrollregel må ha hvis alarmgrensene er sant gjennomsnitt  $\pm$  (største tillatte forskjell -  $1.28 \times s_z$ ) og  $ARL_0$  (ARL når prosessen er normal) skal være 100 eller 370. Hvilk ARL man da oppnår ved største tillatte forskjell ( $ARL_{STF}$ ) er også oppgitt. Dette er vist for tre ulike verdier av største tillatte nivåforskjell mellom to analyseinstrumenter med samme  $VK_a$ .

Systematisk forskjell (%)	Observert $VK_d$ (%)	
	Forskjell registrert som prosent av resultatet fra det første instrumentet	Forskjell registrert som prosent av gjennomsnittet av begge resultatene
0	5,01	5,00
5	5,26	5,00
10	5,51	4,99
15	5,76	4,98

**Tabell 2.** For fire ulike verdier av nivåforskjell mellom to analyseinstrumenter viser tabellen observerte verdier for forskjellenes variasjonskoeffisient ( $VK_d$ ) etter 1 million repetisjoner. Forhåndskalkulert verdi var  $VK_d = (VK_1^2 + VK_2^2)^{0.5}$ , der  $VK_1$  og  $VK_2$  er VK til de to instrumentene.  $VK_1$  var 3 % og  $VK_2$  var 4 %, som ga  $VK_d = 5\%$ . Observert  $VK_d$  var standardavviket i fordelingen av forskjeller registrert som prosent. I det ene tilfellet var forskjellene registrert som prosent av resultatet fra det første instrumentet og i det andre tilfellet som prosent av gjennomsnittet av resultatene fra de to instrumentene.

lik den største tillatte forskjellen på 1 VK<sub>a</sub>. ARL<sub>0</sub> var 370. I denne fordelingen var 50-persentilen en run-lengde på 14. Det må bety at man i det lange løp har en sannsynlighet på 0,5 for å fått en alarm innen run nr 14. Og tilsvarende, siden 90-persentilen i fordelingen var 27, må det bety at man i det lange løp har en sannsynlighet på 0,9 for å fått en alarm innen run nr 27, og at alarmen mest sannsynlig har kommet før det. Reduseres kravene vesentlig, for eksempel ved å redusere ARL<sub>0</sub> til 100 og øke den største tillatte nivåforskjellen til 2 VK<sub>a</sub>, ser man av figur 2 at sannsynligheten for alarm var 0,5 innen run nr 4 og 0,9 innen run nr 7.

Skriptet i Statistics101-språket ga praktisk talt de samme ARL-verdiene som programmet til Neubauer (5). Neubauer sine ARL-verdier var basert på 10 000 repeterete forsøk, mot 100 000 i dette arbeidet. Det ser ellers ut til at de alarm-grensene som vi foreslår, gir omrent samme ytelsesevne som de tradisjonelle alarmgrensene brukt av Neubauer. For eksempel står det ARL = 9.76 ved et konstant "shift" på 1,0 standardavvik, ARL<sub>0</sub> = 370 og n=1 i Table 1 i (5), mens vi fikk ARL = 8.8 ved en nivåforskjell på 1.06 VK<sub>d</sub> og ellers tilsvarende forhold (tabell 1).

Hva er så fordelen med vårt forslag til alarmgrenser? Det forenkler arbeidet med opprettelsen av kontrollreglene. Neubauer foreslår 4 trinn (5). Trinn 1: Bestem ARL<sub>0</sub>. Trinn 2: Bestem "optimum shift to be detected". Det tilsvarer største tillatte forskjell i dette arbeidet. Finn så en passende  $\lambda$  fra en figur. Trinn 3: Finn en passende L-verdi fra en annen figur. Trinn

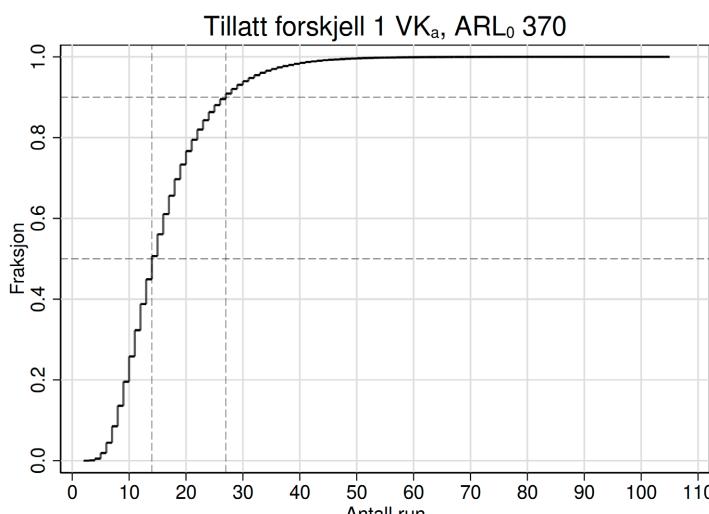
4: Bruk et simuleringsprogram for fininnstilling av kontrollregelen. Den metoden vi foreslår tilsvarer punkt 1, 2 og 4.

Man kunne tro at bruk av grenseverdier for  $s_z$  gir feil ARL-verdier, siden vi ikke bruker de til enhver tid riktige  $s_z$ -verdiene. Slik praksis gir sikkert andre ARL-verdier enn en eksakt EWMA-algoritme (4), men vårt Statistics101-skript gjelder for den forenklede EWMA-algoritmen.

Hvis vi vil bruke kontrollmaterialer i ulike nivåer, og derfor må registrere forskjellen som prosent, skal vi da registrere forskjellen som prosent av resultatet fra et enkelt instrument, eller som prosent av gjennomsnittsresultatet? EWMA-algoritmen må bruke en forhåndskalkulert verdi for VK<sub>d</sub>, og Tabell 2 viser at det sikreste er å registrere forskjellene som prosent av gjennomsnittsresultatet. Overensstemmelsen mellom forhåndskalkulert verdi og observert verdi blir best på den måten. Siden den forhåndskalkulerte verdien for VK<sub>d</sub> skal gjelde for alle kontrollprøvene, er det viktig at man velger ut pasientprøver innen et kontrasjonsområde der VK<sub>a</sub> er noenlunde konstant.

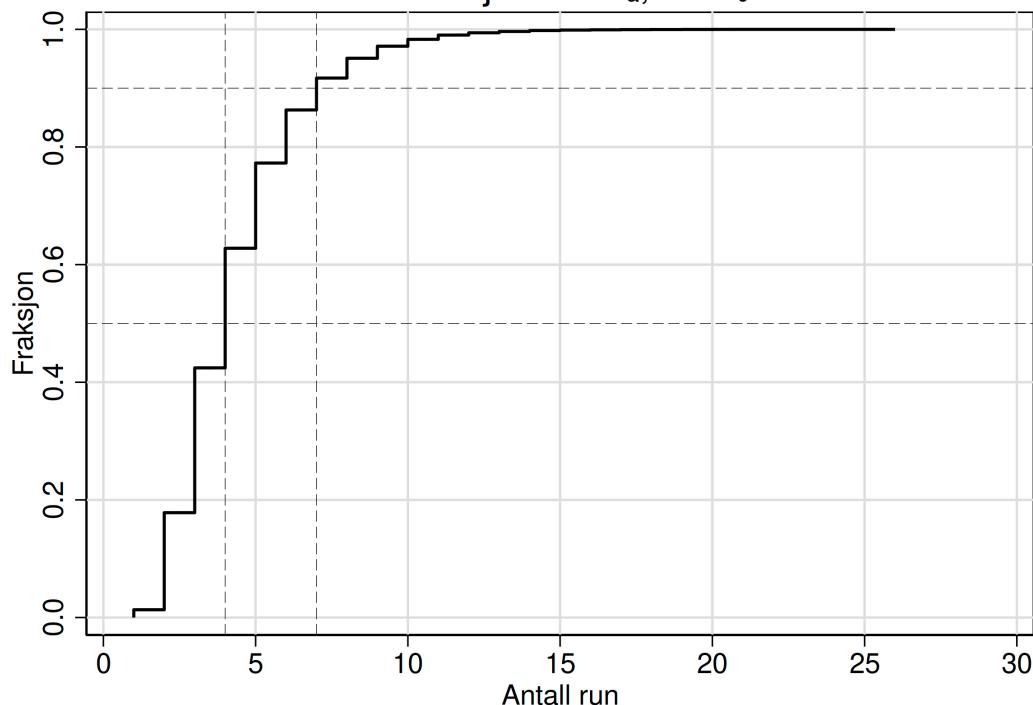
Vi har laget et regneark i excelformat, som kan lastes ned fra KBN hvis man vil eksperimentere litt med metoden (<https://www.nfkk.org/klinisk-biokemi-i-norden/tillagg-till-artiklar/>). Eksemplet der er b-trombocytter analysert med to hematologiinstrumenter.

**Konklusjon:** Med noen tilpasninger kan man bruke pasientprøver til EWMA-baserte kontrollregler for overvåkning av nivåforskjellen mellom to analyseinstrumenter.



**Figur 1.** Kumulativ fordeling av antall run til alarm (run-lengde), der den største tillatte forskjellen mellom to instrumenter var 1 VK<sub>a</sub> og ARL<sub>0</sub> var 370. For et visst punkt på kurven viser y-verdien andelen av forsøk med run-lengde  $\leq x$ -verdien. Y-verdien kan tolkes som sannsynlighet for alarm ved x antall run etter at feilen oppstod. Y-verdiene 0,5 og 0,9 er markert sammen med x-verdiene 14 og 27. Fordelingen var basert på 100 000 forsøk.

## Tillatt forskjell 2 VK<sub>a</sub>, ARL<sub>0</sub> 100



**Figur 2.** Kumulativ fordeling av antall run til alarm (run-lengde), der den største tillatte forskjellen mellom to instrumenter var 2 VK<sub>a</sub> og ARL<sub>0</sub> var 100. For et visst punkt på kurven viser y-verdien andelen av forsøk med run-lengde  $\leq x$ -verdien. Y-verdien kan tolkes som sannsynlighet for alarm ved x antall run etter at feilen oppstod. Y-verdiene 0,5 og 0,9 er markert sammen med x-verdiene 4 og 7. Fordelingen var basert på 100 000 forsøk.

### Referanser

1. Åsberg A, Solem KB, Mikkelsen G. Allowable systematic difference between two instruments measuring the same analyte. Scand J Clin Lab Invest 2014;74:588-90.
2. McCafferty R, Cembrowski G, de la Salle B et al. ICSH guidance for internal quality control policy for blood cell counters. Int J Lab Hematol 2024;46:227-33.
3. Bolann BJ, Åsberg A. Riktig svar på biokjemiske analyser. Oslo: Cappelen Damm, 2020:105-8.
4. Montgomery DC. Statistical quality control. A modern introduction. Singapore: Wiley, 2013: 433-42.
5. Neubauer AS. The EWMA control chart: properties and comparison with other quality-control procedures by computer simulation. Clin Chem 1997;43:594-601.
6. Linnet K. The exponentially weighted moving average (EWMA) rule compared with traditionally used quality control rules. Clin Chem Lab Med 2006;44:396-9.
7. Åsberg A, Bolann B, Mikkelsen G. Using the confidence interval of the mean to detect systematic errors in one analytical run. Scand J Clin Lab Invest 2010;70:410-14.
8. <https://statistics101.sourceforge.io/> [29.08.2024].

**Tillegg 1** Statistics101-skript for simulering av ARL i EWMA-baserte kontrollregler. Linjer som begynner med ' er kommentarer som ignoreres av Statistics101.

```
' ewma.txt
' estimate ARL when using EWMA to monitor the difference between two instruments
' AAA October 2024

' Data
LET no_trials      = 100000
LET mean_value     = 0
LET sd1            = 3.0
LET sd2            = 3.0
LET bias           = 0 * sd1
LET allowable_bias = 1 * sd1
LET lambda          = 0.06505

' Calculations and simulations
LET sd_diff = (sd1^2 + sd2^2)^0.5
LET sz_diff = sd_diff * ((lambda / (2 - lambda))^0.5)
LET ul_diff = mean_value + (allowable_bias - 1.28 * sz_diff)
LET ll_diff = mean_value - (allowable_bias - 1.28 * sz_diff)

REPEAT no_trials

    LET ewma = mean_value
    LET new_mean_value = mean_value + bias
    LET run = 0

    REPEAT 10000

        LET run = run + 1

        NORMAL 1 new_mean_value sd_diff analyte
        LET ewma = lambda * analyte + (1 - lambda) * ewma

        IF ewma > ul_diff OR ewma < ll_diff
            SCORE run all_trials
            BREAK
        END

    END

END

MEAN all_trials arl
PRINT arl
```

*The 4th Nordic Course in specialist training 2025 arranged by NFKK:*

# **The Professional Role of a Clinical Biochemist / Laboratory Doctor**

*(Program as of February, subject to minor changes)*

<b>September 15<sup>th</sup></b>		
<b>Goldmining</b>		
08.00 – 09.35 Incl. short break	1. Introduction to the course 2. Presentation of participants	Linda Hilsted, MD, DMSc Dept. of Clinical Biochemistry Rigshospitalet, Denmark Nette Hornung, MD, PhD Dept. of clinical Biochemistry, Gødstrup Hospital, Denmark
09.35 – 09.45	Break	
09.45 – 09.50	Short introduction to Goldmining	Nette Hornung
09.50 – 10.35	Goldmining a new biomarker	Holger Jon Møller, MD, PhD, DMSc Dept. of Clinical Biochemistry, Aar- hus Univ. Hospital, Denmark
10.35 – 10.50	Break	
10.50 – 12.30	Leadership and communication in a dynamic organization	Anna-Marie Münster, MD, PhD Hospital of SouthWest Denmark
12.30 – 13.30	Lunch	
13.30 – 15.10 Incl. 10 minutes break	Goldmining the basics 1. Preanalytical factors 2. Postanalytical factors	Mads Nybo, MD, PhD Dept. of Clinical Biochemistry, Odense University Hospital, Denmark
<b>Goldmining in Clinical Biochemistry</b>		
15.10 – 15.30	Coffee	
15.30 – 16.15	Goldmining the laboratory infor- mative systems	Bent Lind, MD, DMSc Copenhagen University Hospital, Hvidovre
16.25 – 17.10	Goldmining the Artificial Intelligence	Pernille Vinholt, MD, PhD
Break		
19.00	Dinner	

<b>September 16<sup>th</sup></b>		
<b>Operating and Optimizing a Clinical Biochemistry Laboratory</b>		
08.00 – 08.45	Tasks for the professional: Choice of analyses, tools for interpretation of results (biological variation, reference intervals, decision values, IT-systems, textbooks, Lab-manual), etc.	Ingvar Rydén, MD Div. of Clinical Chemistry and Pharmacology, Linköping Univer- sity, Sweden

08.45 – 08.55	Break	
08.55 – 09.40	Continued	Ingvar Rydén, MD
09.40 – 10.10	Break	
10.35 – 10.50	Break	
10.10 – 10.55	Life and work in a clinical biochemical laboratory, how to support a relevant and efficient operation.	Louise Lylloff, MD, PhD Dept. of clinical Biochemistry, Gødstrup Hospital, Denmark
11.00 – 11.15	Introduction to groupwork	Linda Hilsted/Nete Hornung
11.15 – 12.00	Group work	
12.00 – 13.00	Lunch	
13.00 – 14.45	Groupwork - Walk and Talk	
14.45 – 15.00	Coffee	
15.00 – 15.45	Group work	
15.45 – 16.00	Break	
16.00 – 17.30	Poster presentation in groups	

September 17 <sup>th</sup>		
Communication, dialogue, teaching, leadership		
08.00 – 09.00	Strategic leaderships in a clinical biochemistry department: Capital vs. Regional Depts.	Linda Hilsted, Nete Hornung
09.00 – 09.10	Break	
09.10 – 9.55	How do we develop Academic Medicine within Clinical Biochemistry	Anders Larsson, MD,DMSc Akademiska, Uppsala University
09.55 – 10.15	Break	
10.15 – 11.00	Leadership-roles as a clinical biochemist in various contexts – what did I learn/Key messages	Lars Bo Nielsen, MD, DMSc Villum Foundation
11.00 – 11.10	Break	
11.10 – 11.55	Education in Clinical Biochemistry: responsibilities and the transition from being in specialist training to being responsible for the training of others	Emil Bartels, MD, PhD Dept. of Clinical Biochemistry Rigshospitalet, Denmark
11.55 – 13.00	Lunch	
13.00 – 13.45	From Clinical Biochemist to Department Head to Research Dean – and back? A Norwegian perspective	Jens Petter Berg, MD, DMSc Dept. of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Oslo, Norway
13.45 – 15.00	Presentations from the groups	Moderators: Linda Hilsted, Nete Hornung
15.00 – 16.15	Why did I choose clinical Biochemistry and where am I in 5 years?	All participants (2 – 3 minutes each)
16.15 – 16.30	End of course - feedback	Linda Hilsted, Nete Hornung

# Til manuskriptforfattere

Utfyllende forfatterinstruksjoner finnes på hjemmesiden, <http://www.nfkk.org/klinisk-biokemi-i-norden/instruktioner>. Litteraturhenvisninger (maksimalt 20) nummereres i den rekkefølge de angis i manuskriptteksten og skrives i Vancouver-stil, men med bare de tre første forfatterne. Dersom artikkelen har mer en tre forfattere listes de tre første etterfulgt av "et al". Forfatternes eternavn skrives først, deretter initialer (for og mellomnavn), forfatterne skiller ved komma og punktum settes etter siste forfatters initialer evt. etter "et al". Punktum brukes også etter tittel på artikkelen. Journalnavn forkortes som angitt i Pubmed, liste over forkortelser finnes i LinkOut Journals. Etter journalforkortelsen følger et mellomrom, års-tall for publikasjonen, et semikolon, volum nummer, et kolon og sidetall. Overflødige sidetall fjernes, som vist i eksempelet 1989;49:483-8. Personlige meddelelser (inkludert fullt navn og årstall) og produkt informasjon skal ikke stå i referanselisten men refereres i manuskriptteksten. Dersom det er flere enn 20 referanser, må forfatteren velge ut de 20 viktigste som skal stå i bladet. De øvrige skal nummereres kronologisk i teksten, men leserne må kontakte forfatteren for å få dem.

## Eksempler

### *Journal artikkel med inntil tre forfattere:*

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

### *Journal artikkel med mer enn tre forfattere:*

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

### *Abstrakt:*

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

### *Bok kapitler:*

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

### *PhD teser:*

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

### *On-line publisert artikkel som ennå ikke er trykt:*

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

### *Supplement:*

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

### *Internett kilde:*

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

**Se også NFKK's og KBN's hjemmeside: [www.nfkk.org](http://www.nfkk.org)**

## Nordisk Forening for Klinisk Kemi (NFKK)

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

**Det nåværende styret består av:** Mads Nybo (Odense), Nikki Have Mitchell (København), Anna Linko-Parvinen (Turku), Eeva-Riitta Savolainen (Oulu), Ólöf Sigurdardottir (Akureyri), Leifur Franzson (Reykjavík), Joakim Eikeland (Oslo), Inga Zelvyte (Jönköping), Morten Lindberg (Tønsberg). **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.marie.hilsted@regionh.dk](mailto:linda.marie.hilsted@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](mailto: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](mailto: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](mailto:kristina.hotakainen@helsinki.fi)



## NFKK

Överläkare Per Bjellerup  
Laboratoriemedicin Västmanland  
Västmanlands sjukhus  
SE-721 89 Västerås  
[per.bjellerup@regionvastmanland.se](mailto:per.bjellerup@regionvastmanland.se)



## Finland

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

# An assay that sets a new standard of care

The first CE-marked\* NfL blood test  
for routine clinical use

[siemens-healthineers.com/nfl](http://siemens-healthineers.com/nfl)

## Neurofilament Light Chain



Scan and read more



**SIEMENS**  
**Healthineers** 