

Klinisk Biokemi i Norden

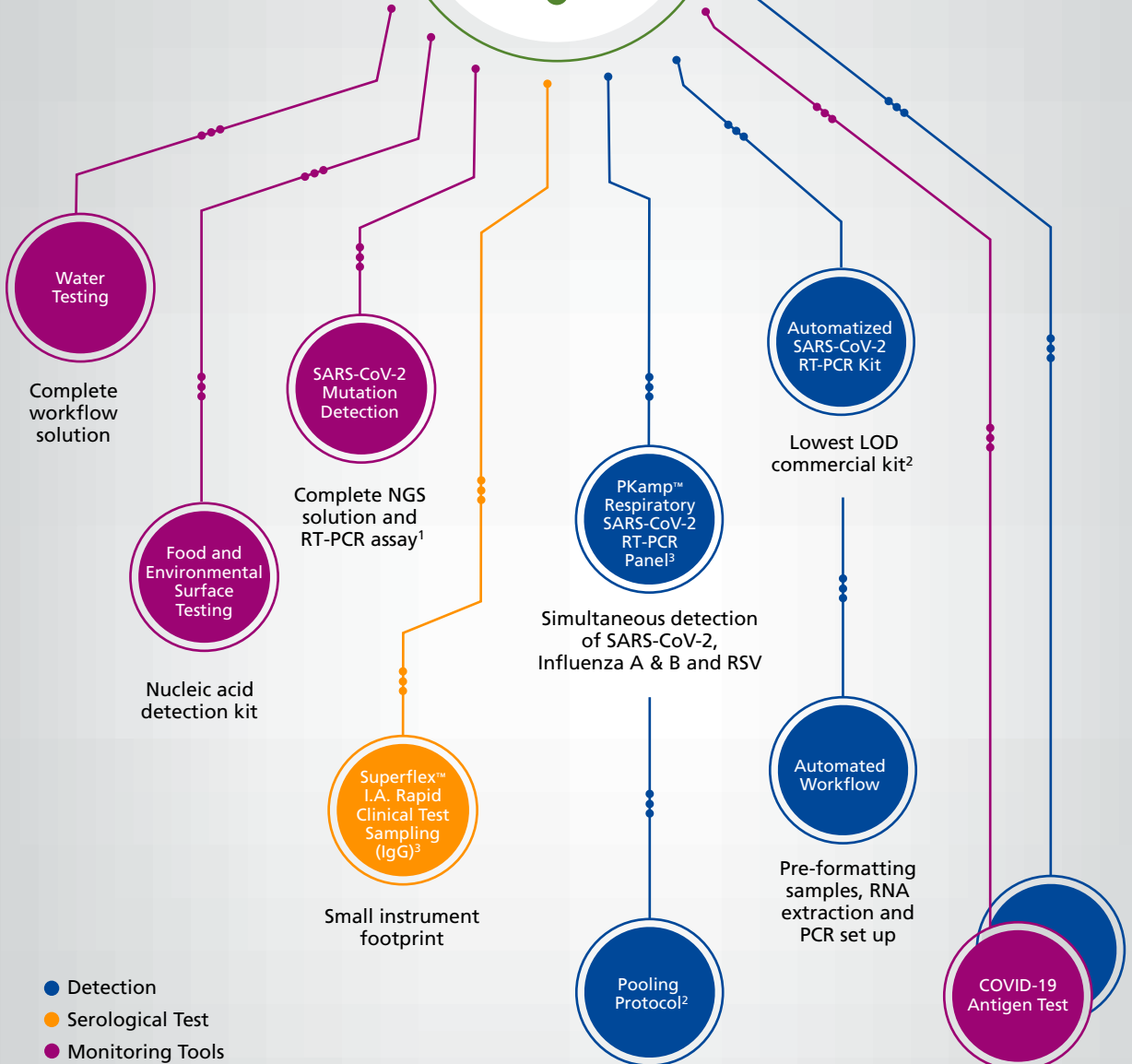


SARS-CoV-2



SOLUTIONS

From PerkinElmer



¹ For research use only. Not for use in diagnostic procedures.

² FDA reference panel comparative date Nov' 11, 2020 - For emergency use authorization only.

³ Products may not be licensed in accordance with the laws in all countries, such as the United States and Canada. Please check with your local representative for availability.

More information visit: www.perkinelmer.com
or contact us at cc.nordic@perkinelmer.com



INDHOLD

Leder: Pandemi, Covid, karantän, vaccinationer, jordbävningar och vulkanutbrott	4
<i>Ingunn Borsteinsdóttir</i>	
Nordic Congress in Clinical Biochemistry 2022	7
Formandens spalte: Reduktion af antal blodprøver	8
<i>Henrik L. Jørgensen</i>	
Vaccine-induceret Immun Trombotisk Trombocytopeni (VITT).	10
<i>Anne-Mette Hvas</i>	
Måling af antistoffer mod SARS-CoV-2	13
<i>Ram B. Dessau, Lene Holm Harritshøj, Mikkel Gybel-Brask</i>	
Mulige måder at reducere unødige analyser	18
<i>Jens Peder Munk</i>	
Knogletæthedsmåling og biomarkører til monitorering af osteoporosebehandling.	20
<i>Søren Bønløkke Pedersen, Michael Schønemann Rand, Pia A. Eiken, Niklas Rye Jørgensen</i>	
Kolde facts om kryoproteiner	28
<i>Mie Samson</i>	
Last call for applications to NOBIDA	31
<i>Nils Bolstad, Jón Jóhannes Jónsson, Veli Kairisto, Fredrik Bökman, Henrik L. Jørgensen, Morten Pedersen</i>	
Kvalitetsmål på laboratorienivå.	32
<i>Anders Larsson</i>	
Ph.d. avhandling: Estimation and measurement of glomerular filtration rate in children	34
<i>Cathrin Lytomt Salvador</i>	
Kreatinin – en rasistisk laboratorieanalys	38
<i>Anders Larsson</i>	
SKUP: qLabs ElectroMeter Q-3 Plus Owren (dry) for measurement of PT (INR)	40
<i>Elisabet Eriksson Boija</i>	

Forsiden: Mange ulike vaksiner mot Covid-19 er utviklet i rekordfart det siste året. I flere land har man den seneste tiden sett noen få tilfeller av svært alvorlige bivirkninger etter vaksiner med AstraZeneca-vaksinen, såkalt vaksineindusert immun trombotisk trombocytopeni (VITT). Vaksiner med denne vaksinen er stoppet i Danmark og i Norge, mens de andre nordiske landene fortsatt bruker den. Les mer om VITT i Anne-Mette Hvas sin artikkel i dette nummer.

Leder:

Pandemi, Covid, karantän, vaccinationer, jordbävningar och vulkanutbrott

Ingunn Þorsteinsdóttir



Vad kommer först upp i tankarna om det senaste året?

Pandemi, Covid, karantän, vaccinationer, provtagningar, handtvätt, handsprit, ansiktsmasker självklart - men Islands natur har fått oss att till tider glömma Covid de senaste månaderna.

Reykjanes, halvön väster och söder om Reykjavik, har varit vulkaniskt aktiv under hela Island geologiska historia. Senasta aktiva period slutade för ca 900 år sedan efter flera vulkanutbrott som pågick tillsammans under hela 300 år. Har själv vandrat i lavalandskapet kring Reykjavik otaliga gånger och trodde aldrig jag skulle få uppleva vulkanutbrott i så omedelbar närhet av min födelsestad. Vi har haft perioder med jordbävningar väster om Reykjavik det senaste året. Invånarna i den lilla orten Grindavik som ligger nära det vulkanutbrott som jordbävningarna förebådade, sov förstås oroligt veckorna innan vulkanutbrottet på grund av de kraftiga jordbävningarna. Vulkanutbrottet startade den 19 mars ca tre mil väster om Reykjavik. Sedan dess har nyheter om vulkanutbrottet och om Covid-situationen dominerat nyheterna. Vulkanutbrottet har kommit att bli en mycket stor turistattraktion för Islands befolkning.

Det pågår endast en gåtur på ca 3 kilometer från en bilväg öster om den lilla byen Grindavík. Vi islänningar har fått lära oss namn som Geldingadalir, där det ursprungliga utbrottet ägde rum, Fagradalsfjall, Stóri Hrútur, Meradalir osv allt efter som utbrottet utvecklats. De första fyra veckorna av vulkanutbrottet har totalt åtta kratrar öppnat sig och utbrottet fortsätter i skrivande stund med en konstant lavaström.

De mest besökta hemsidorna på Island utöver nyhetssidorna har sannolikt varit, covid.is, vedur.is (rapporterar antal och styrka av jordbävningar på Island), samt live strömningstjänst med utbrottet bl a på ruv.is.

Covid verkar inte ha drabbat Island lika hårt som vissa av våra grannländer. En bidragande orsak kan vara det låga antalet invånare och hur glesbyggt Island är, samt Islands läge på avstånd som en ö mitt i norra Atlanten. Vi har trots detta periodvis haft mycket strikta restriktioner för att förhindra spridning av Covid. Till Island kommer resenärer antingen med flyg eller båt som utsatts för strikta åtgärder på gränsen under en lång tid. Islänningarna har i generell varit mycket skötsamma och följt myndigheternas rekommendationer vad gäller personlig hygien, karantän, isolering av Covid sjuka samt provtagning vid minsta misstanke om sjukdom. Användning av smittskyddsmasker har varit ett krav sedan i höstas över allt där man inte har kunnat garantera ett minsta avstånd på två meter mellan personer.

Förutom strax i början av epidemien har vi haft mycket god tillgång till provtagning och för qPCR analyser av SARS-CoV-2. Här ser man som det viktigaste för att hitta individer med covid att alla erbjuds provtagning och befolkningen uppmuntras att beställa diagnostik så fort de känner symptom

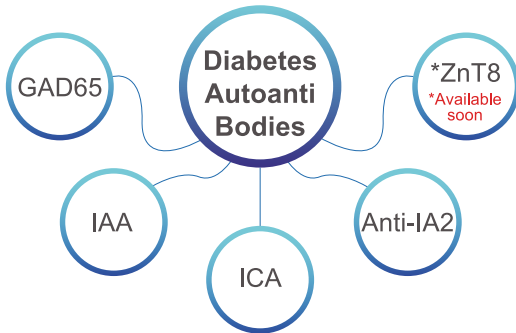


Comprehensive tests on automated CLIA platform for type 1 diabetes

- Assist early diagnosis of type 1 diabetes
- Comprehensive glycometabolism test with CLIA method
- Excellent performance of precision and linearity
- Rapid detection enables greater detection capacity for hospitals and labs
- One of the few CLIA manufacturers that conducts diabetes autoantibodies assays, and the world's first quantitative IAA reagent on automated CLIA platform.



Snibe has the comprehensive glycometabolism test menu, is able to perform combined detection such as GAD65, IAA, ICA, Anti-IA2 on automated CLIA platform, with safety (no radiation hazard), stability, fast measurement, high sensitivity, wide linear range, high degree of automation, reducing human operation bias.



MAGLUMI® 4000 Plus

- Throughput: Maximum **280** tests/hour
- Sample and reagent continuous loading
- On board capability: up to **144** samples
- Reagent position: **25**
- **Inpeco Automation Track Connectable**



MAGLUMI® 800

- Throughput: Maximum **180** tests/hour
- Sample and reagent continuous loading
- On board capability: up to **40** samples
- Reagent position: **9**

MAGLUMI® is a trademark of Snibe.

All other product names and trademarks are the property of their respective owners.



förenliga med Covid infektion. Min uppfattning är att den isländska befolkningen har använt denna möjlighet på ett högst adekvat sätt. Det ses som samhällsplikt att söka upp provtagningsställen vid minnsta symtom och inte gå till arbetet eller vistas bland andra för än ett negativt Covid testresultat föreligger. Det är mycket enkelt att beställa provtagning via den elektroniska journalen. Alla får tid för provtagning samma dag, eller senast dagen efter. Resultatet på Covidtestet finns i den elektroniska journalen inom fyra till fem timmar. Virologiska avdelningen på sjukhuset har arbetat tätt tillsammans med DeCode, det stora internationella genetiska företaget på Island. Under den första perioden av covid gjorde avdelningen för virologi och DeCode qPCR analyserna för SARS-CoV-2 tillsammans. På DeCode har SARS-CoV-2 varit sekvenseras hos alla som befunnits smittade av viruset, och svaret har varit klart senast 36 timmar efter provtagning. Hos alla smittade individer finns information om typ av viruset, dvs vilken mutation av det ursprungliga SARS-CoV-2 som det handlar om.

Under pandemins början genomförde DeCode randomiserad provtagning i samhället av förekomst av SARS-CoV-2 med qPCR (1). I flera omgångar erbjöds symptomfria islänningar till provtagning, både i områden som hade drabbats speciellt hård av covid men också i mindre utsatta områden. Ett objektivi mått på spridningen av smitta kunde på detta sätt kartläggas, en del symptomfria individer identifieras och isoleras tills smittrisken bedömdes vara över. I skrivande stund när antalet Covid-smittade ökat igen, har Decode startat randomiserad testning i samhället för att kartlägga aktuell samhällssmitta.

Hos "Almannavarnir" (motsvarar "Myndigheten för Samhällsskydd och Beredskap", MSB, i Sverige) startades en smittpårningsgrupp som kontaktar alla som smittas av SARS-CoV-2. Den består av bl a poliser och sjuksköterskor. Deras uppgift är att spora vilka kontakter de SARS-CoV-2 positiva har haft de sista dagarna innan provtagningen. De som testas positiva för SARS-CoV-2 måste isolera sig i hemmet eller på speciella karantänhotell. De som har varit i kontakt med SARS-CoV-2 positiva kontaktas också av denna grupp och de gör en bedömning om de måste vara i karantän. I början av epidemien var tiden för karantän 14 dagar. Karantäntiden har ändrats till 5 dagar och ett negativt qPCR Covid test krävs för att slippa ur karantän. Sekvensering av SARS-CoV-2 hos

DeCode, som alltid är klar inom 36 timmar är avgörande för spåringsgruppens arbete som ett objektivi mått för att spåra infektionen.

Under första delen av sommaren 2020 och i början av året 2021 hade vi mycket färre SARS-CoV-2 positiva. De sista månaderna har sekvensering av viruset visat att Covid har kommit till Island från utlandet och den så-kallade brittiska varianten dominerar för tillfället. Reglerna för skydd mot Covid på gränsen har ändrats flera gånger det gångna året. Nu måste ankommande passagerare ha ett negativt Covid test från avreselandet, ett negativt Covid test på flygplatsen/hamnen, samt vara i fem dagars karantän och testas med ett negativt Covid test efter karantänen. De övervägande flesta följer dessa regler, men alla smittade på Island den sista tiden har tyvärr kunnat spåras till individer som brutit mot gällande karantänsregler vid ankomsten till Island.

En Covid öppenvårdsavdelning startades på Landspítalinn i Reykjavík för ett drygt år sedan som följer upp alla patienter med aktiv SARS-CoV-2 infektion på Island. Covid patienterna kontaktas av avdelningens läkare och sjuksköterskor pr. telefon. Där följer vårdpersonalen hur patienterna mår och ger råd. Om patienterna blir kliniskt sämre kallas de in på Covid öppenvårdsavdelningen för klinisk bedömning. Där beslutas också i fall patienten kan försätta att vistas hemma eller behöver läggas inn på sjukhus (2).

Kampen mot Covid är tyvärr långt ifrån vunnen, och vaccinationer spelar säkert den avgörande rollen. Däremot kommer vi aldrig att se slutet på den vulkaniska aktiviteten på Island, men befolkningen har lärt sig leva tillsammans med Islands natur under mera än 1100 år. Det är enbart framtiden som kan visa oss hur pandemien fortsätter hos oss i Norden och i övriga världen. Det samma gäller för Island natur, jordbävningar och vulkanutbrott.

1. Gudbjartsson DF, Helgason A, Jonsson H, et al. Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic Population. *N Engl J Med.* 2020;382:2302-2315.
2. Helgason D, Eythorsson E, Olafsdottir LB, et al. Beating the odds with systematic individualized care: Nationwide prospective follow-up of all patients with COVID-19 in Iceland. *J Intern Med.* 2021;289:255-258.



XXXVIII Nordic Congress in Clinical Biochemistry

10-13th May 2022, Reykjavik, Iceland



Formandens spalte:

Reduktion af antal blodprøver

Henrik L. Jørgensen

Formand i NFKK



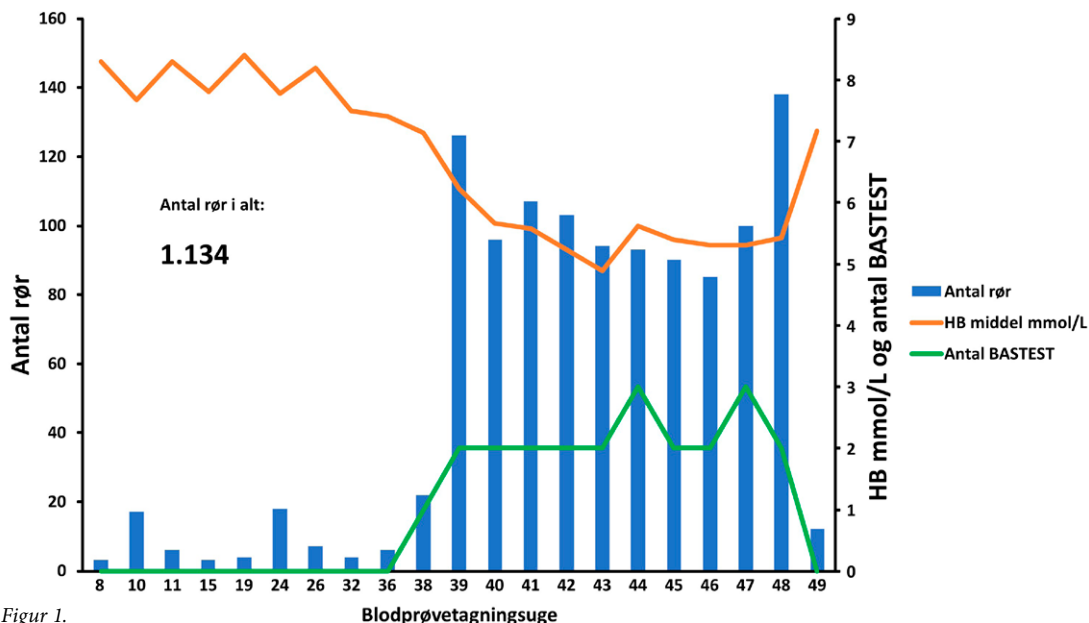
Jeg har før på denne plads omtalt, at der måske tages for mange blodprøver (KBN nummer 4, 2019). I dette nummer beskriver Jens Kristian Munk metoder til at reducere antallet af analyser af to parametre, nemlig vitamin D og HbA1c, hvor forbruget er steget voldsomt de seneste år på de fleste laboratorier. Arbejdet med sådanne metode er meget vigtigt og bør efter min mening prioriteres højt i de kommende år – ikke blot af økonomiske årsager, selvom det selvfølgelig også er et meget væsentligt aspekt, men bestemt også af hensyn til patientsikkerhed og behandling.

Vi har på Hvidovre Hospital trukket data fra vores laboratorieinformationssystem, Labka II, og fundet,

at ganske mange indlagte patienter får tappet uhenigtsmæssigt store mængder blod i forbindelse med blodprøvetagning. Det kan blive til flere liter blod i løbet af et enkelt indlæggelsesforløb. Nogle patienter får trukket så meget blod, at deres B-hæmoglobin falder i takt med antallet af udtagne rør i en grad, så blodtransfusioner bliver nødvendige. Figur 1 viser den første patient, vi fandt med dette fænomen - en patient fra intensivafdelingen. Her ses det tydeligt, hvordan B-hæmoglobin (den røde kurve og højre akse) falder i takt med, at antallet af blodprøverør (søjlerne og venstre akse) stiger, hvilket nødvendiggør blodtransfusioner (den grønne kurve og højre akse).

Fænomenet er ikke ukendt. I en artikel af Whitehead et al. fra 2019 anslås det, at voksne patienter på intensiv afdelinger taber 340–660 mL blod om ugen

Antal rør til blodprøver, HB middel og antal BASTEST fordelt på prøvetagningsuge over et år på én patient.



Figur 1.

pga blodprøvetagning med en 18% øgning i risikoen for anæmi per 50 mL udtaget blod (1).

Vi har sidenhen identificeret adskillige tilsvarende forløb på mange andre typer af afdelinger: gastroenterologi, ortopædkirurgi, infektionsmedicin mm. På sidstnævnte afdeling får særligt Covid-19 patienterne ofte udtaget flere liter blod ved blodprøvetagning og må efterfølgende have blodtransfusioner.

Selv patienter indlagt til rehabilitering efter operation på ortopædkirurgisk afdeling får ikke sjældent taget blodprøver hver dag i længere tid med signifikant, kumuleret blodtab til følge.

Der er primært to årsager til dette store forbrug af blodprøver. Den ene er letheden, hvormed man i de elektroniske rekvisitionssystemer ved hjælp af få klik kan bestille en stor pakke af blodprøver, der indebærer fyldning af mange glas ved et enkelt indstik. Den anden er hyppigheden disse pakker bliver bestilt med.

Vi har på vores hospital indledt møder med de kliniske afdelinger, hvor vi ser på deres egne rekvisitionsmønstre og de store mængder af blod, som de udtager fra patienter, der er indlagt i længere tid på afdelingerne i håbet om, at kunne ændre denne praksis. Et af disse møder var netop med ortopædkirurgisk afdeling, hvor mere end 50% af patienterne på deres sengeafsnit får taget blodprøver hver dag, og mere end 10% af patienterne der får taget blodprøver flere gange om dagen. Disse tal er væsentligt større på de medicinske afdelinger, hvor vi har fundet de fleste eksempler på patienter, der får tappet mere end 1 L blod ved blodprøver i forbindelse med en indlæggelse.

En ting er den rent mekaniske forklaring på det store træk af blod - pakkerne og hyppigheden hvormed de bestilles. En anden ting er, hvorfor de klinisk arbejdende læger agerer på denne måde. Det findes der ikke så mange undersøgelser over, men jeg kan dog nævne en amerikansk undersøgelse fra New York fra 2018, hvor man har studeret klinisk arbejdende lægers forhold til blodprøver. Blandt medicinerne mente hele 66 %, at patienter som udgangspunkt skal have taget blodprøver hver dag mod 47 % blandt kirurgerne. Selv blandt pædiaterne, hvis patienter jo har en del mindre blod at give af fra en start, mente hele 56 %, at børnene skulle have taget blodprøver hver dag. Adspurgt om årsagen hertil fremførte mere end 90 % af lægerne, uafhængigt af speciale, at sådan havde de altid gjort – altså en vane, som de ikke tænkte nærmere over (2). Andre mulige forklaringer kan



Åreladning i middelalderen.

være defensiv medicin, travlhed, krav om hurtigere og mere effektivt patientflow mm.

I gamle dage blev åreladning brugt kurativt ud fra en betragtning om, at man kunne fjerne onde væsker fra patienterne (figur 2). Man mente, at det havde en gavnlig effekt på stort set alt: Febertilstande, svangerskabsforgiftning, sindssygdomme, utroskab osv. I vore dage, er der stadigvæk enkelte sygdomme som hæmokromatose og polycytæmia vera, hvor venesection benyttes i behandlingen, men den ret udbredte, utilsigtede venesection, som påføres via blodprøvetagninger er næppe gavnlig for i forvejen sygdomssvækkede, indlagte patienter.

Referencer

1. Whitehead NS, Williams LO, Meleth S, et al. Interventions to prevent iatrogenic anemia: a Laboratory Medicine Best Practices systematic review. *Crit Care*. 2019;23:278.
2. Korenstein D, Husain S, Gennarelli RL, Gennarelli RL, et al. Impact of Clinical Specialty on Attitudes Regarding Overuse of Inpatient Laboratory Testing. *J Hosp Med* 2018;13:844-847.

Vaccine-induceret Immun Trombotisk Trombocytopeni (VITT)

– et ny syndrom opstået efter introduktion af vaccination med ChAdOx1 nCoV-19 (AstraZeneca) mod SARS-CoV-2

Anne-Mette Hvas,

overlæge på Blodprøver og Biokemi,

Aarhus Universitetshospital og professor ved Aarhus Universitet

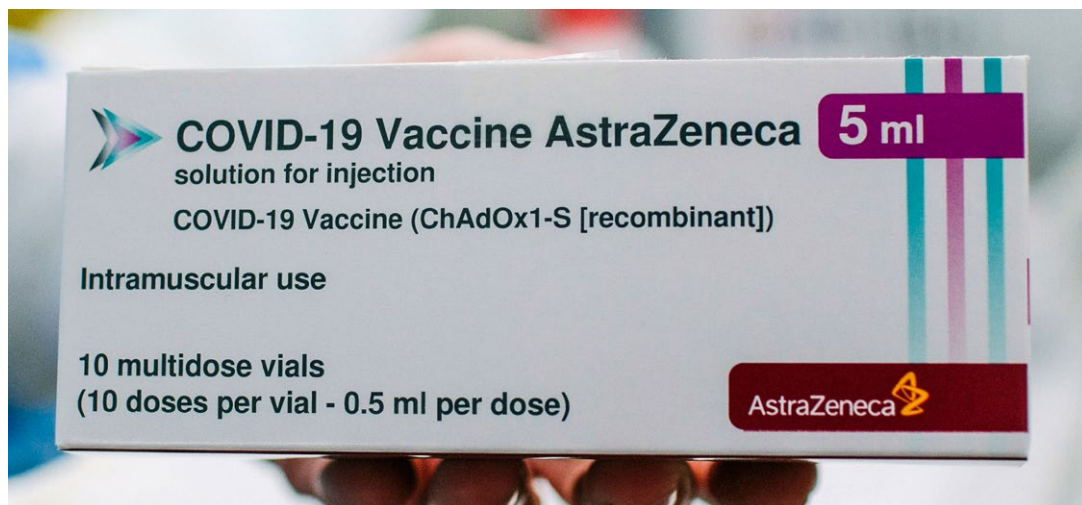
annehvas@rm.dk



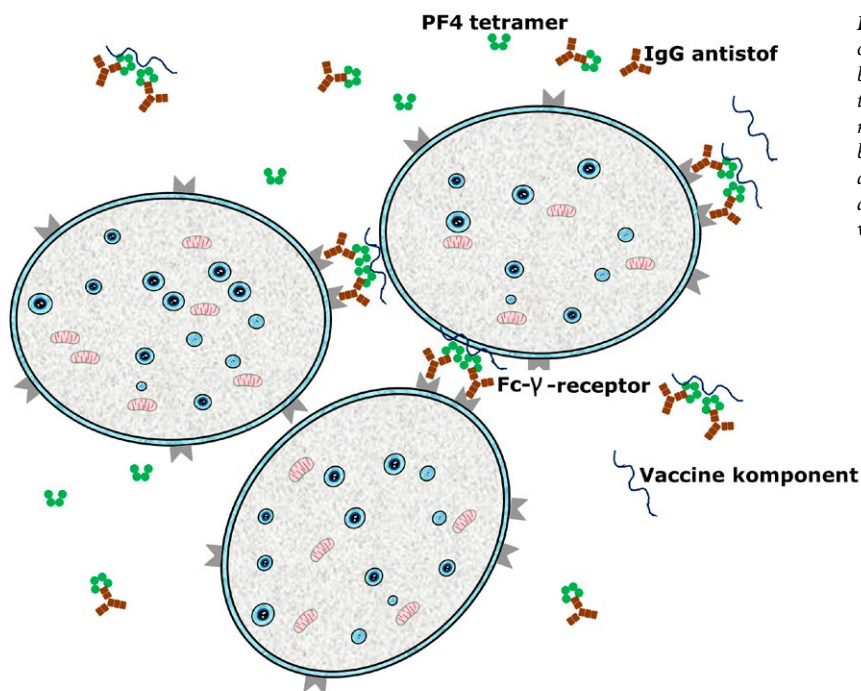
Den 11. marts 2021 valgte direktøren for den danske Sundhedsstyrelse Søren Brostrøm at sætte AstraZeneca vaccinen på pause, og medio april valgte den danske Sundhedsstyrelse at fortsætte udrulningen af COVID-19-vaccinationsprogrammet uden brug af vaccinen fra AstraZeneca (Figur 1). Beslutningen blev taget på baggrund af, at der i Danmark og i det øvrige Europa havde været få, men livstruende sygdomsforløb med svær tromboembolisk sygdom, trombocytopeni og i nogle tilfælde yderligere kompliceret af blødning efter indgift af vaccinen.

I løbet af ganske få uger lykkedes det læger og forskere ved et fælles samarbejde nationalt og internationalt at afdække nogle af de mekanismer, der ligger bag det syndrom, der nu har fået betegnelsen *Vaccine-induced Immune Thrombotic Trombocytopenia* (VITT). I dette indlæg opsummeres noget af den viden, som vi indtil videre har opnået om VITT og den svære koagulopati, der er knyttet til dette sygdomskompleks.

Et tysk-østrigsk samarbejde publicerede primo april 11 VITT-cases og samtidigt lykkedes det nordmændene at publicere de 5 cases, som de havde udrett og behandlet (1,2). Generelt drejede det sig om relativt unge personer, som var raske, før de fik vaccinen. Ca.



Figur 1. AstraZeneca vaccinen (), som har vist sig i sjældne tilfælde at kunne medføre Vaccine-induceret Immun Trombotisk Trombocytopeni (VITT).



Figur 2. En simplificeret oversigt over mekanismen bag den protrombotiske tilstand, der initieres af dannelse af autoantistoffer, som bindes til pladefaktor 4, og dermed danner et kompleks, der aktiverer trombocytterne via Fc gamma-receptoren.

1-2 uger efter først stik med vaccinationen opstod svære sygdomsmanifestationer, med udbredt cerebral venøs sinuostrombose som den hyppigste trombotiske manifestation. Flere patienter havde derudover samtidig splanchnicus trombose (1,2). Efterfølgende er der ligeledes publiceret en case-serie fra Storbritannien med 23 patienter, hvor der i ugerne efter AstraZeneca-vaccination opstod trombocytopeni og trombose, primært cerebral venøs sinuostrombose hos 22 af disse patienter, hvorimod en patient præsenterede sig med isoleret trombocytopeni og blødning (3). Der er indtil videre publiceret én dansk kasuistik, hvor sygdomsforløbet adskilte sig ved, at patienten fik en arteriel trombose i form af et stort a. cerebri media infarkt udover, at der var trombocytopeni og blødning til stede (4).

Den biokemiske udredning har spillet en helt central rolle i forhold til afdækning af mekanismer og det differentialdiagnostiske arbejde. Biokemisk var patienterne overordnet karakteriseret ved trombocytopeni, forhøjet fibrin d-dimer og i nogle tilfælde ligeledes nedsat fibrinogen som tegn på forbrugskoagulopati. Det karakteristiske kliniske billede mindede mestendels om heparin-induceret trombocytopeni, som er en protrombotisk tilstand kompliceret af

trombocytopeni, der udløses af heparinbehandling. På grund af sammenfald i det kliniske billede analyserede man antistoffer mod pladefaktor 4 (PF4), som ligeledes dannes ved heparin-induceret trombocytopeni. Dette viste sig at være nøglen til at forstå noget af den pågående koagulopati.

PF4 er et 70 aminosyre stort protein på 35 kDa. PF4 lagres blandt andet i megakaryocytter og i trombocytternes alfa-granula, og frigives derfra, når trombocytterne aktiveres. Det biokemiske karakteristikum ved VITT er, at patienterne danner IgG antistoffer mod PF4-polyanion komplekser, som aktiverer trombocytterne via Fc gamma-receptoren på trombocytternes overflade (Figur 2). Der i gang sættes efterfølgende en ond cirkel, hvor øget trombocytaktivering medfører øget frigivelse af PF4, som bidrager til kompleksdannelse med autoantistoffer og dermed yderligere øgning i trombocytaktivitet, trombocyttaggregation og trombindannelse - og ultimativt trombosdannelse. Det vides endnu ikke med sikkerhed, hvad det er ved vaccinen, der udløser denne antistofdannelse, men forskere har forskellige teorier blandt andet anført af Greinacher et al (5).

Antistoffer mod PF4-polyanion komplekser påvises ved ELISA, hvor der er flere forskellige leverandører

på markedet. Derudover laves en funktionel test, hvor tilsætning af patienternes serum vil øge trombocytternes aktivitet og aggregationssevne, såfremt antistofkomplekserne er til stede hos patienten. Disse trombocyttestests kan både udføres med lystransmissionsaggregometri og som fuldblods-impedansaggregometri.

Som mulige differentialdiagnoser har særligt 3 differentialdiagnoser været diskuteret, nemlig dissemineret intravaskulær koagulation (DIC), trombotisk trombocytopenisk purpura (TTP) og hæmolytisk uræmisk syndrom (HUS). Sygdomsbilledet har et vist overlap med DIC, men den sekundære hæmostase udtrykt ved APTT og INR er i de fleste tilfælde normale, og det kliniske billede er primært domineret af større tromboser fremfor perifer nekrose som tegn på mikrotrombose, - hvilket kun er beskrevet hos få af patienterne. I forhold til TTP blev mangel på ADAMTS-13 udelukket, og der var ej heller tegn til hæmolyse eller uræmi, hvilket ligeledes udelukkede HUS. I forhold til primær immuntrombocytopeni



(ITP) har VITT et meget mere dynamisk og katastrofalt - og trombotisk - forløb end ITP.

Vi står således overfor et helt nyt syndrom opstået efter vaccination, som kan være livstruende og vanskeligt at behandle, da forløbene er så alvorlige og hurtigt progredierende. Ud af 40 cases, hvoraf 1 var dansk, døde 17 (43%). Vaccinen rulles nu videre ud i store dele af verden, hvor man på baggrund af den viden, der er indhentet på ekstremt kort tid, vil være klar til at diagnosticere patienterne og behandle hurtigt med antitrombotika, der ikke indeholder heparin, med trombocyt koncentrat ved meget lave trombocyt tal og/eller kritisk blødning og med immunglobulin for at blokere den uhensigtsmæssige aktivering af trombocytterne. På baggrund af et lavt smittetryk i Danmark, og da vi er så langt i vaccinationsprogrammet, forekommer Sundhedsstyrelsens beslutning om at fortsætte vaccinationsprogrammet uden AstraZeneca-vaccinen yderst relevant.

Referencer

1. Greinacher A, Thiele T, Warkentin TE, et al. Thrombotic thrombocytopenia after ChAdOx1 nCoV-2 vaccination. [Epub ahead of print] *N Engl J Med* 2021 April 9. doi: 10.1056/NEJMoa2104840.
2. Schultz NH, Sørvoll IH, Michelsen AE, et al. Thrombosis and thrombocytopenia after ChAdOx1 nCoV-2 vaccination. [Epub ahead of print] *N Engl J Med* 2021 April 9. doi: 10.1056/NEJMoa2104882.
3. Scully M, Singh D, Lown R, et al. Pathologic Antibodies to Platelet Factor 4 after ChAdOx1 nCoV-19 Vaccination. [Epub ahead of print] *N Engl J Med* 2021 April 22. doi: 10.1056/NEJMoa2105385.
4. Blauenfeldt R, Kristensen SR, Ernstsen SL, et al. Thrombocytopenia with thrombosis and bleeding in a patient newly vaccinated with an adenoviral vector-based vaccine. [Epub ahead of print] *J Thromb Hemost* 2021 Apr 20. doi: 10.1111/jth.15347.
5. Greinacher et al. Towards understanding ChAdOx1 nCoV-19 Vaccine-induced Immune Thrombotic Thrombocytopenia (VITT). Research Square (preprint) 2021 April 20.

Måling af antistoffer mod SARS-CoV-2

– en unik mulighed for validering af serologiske assays

Ram B. Dessau¹, Lene Holm Harritshøj², Mikkel Gybel-Brask²

¹Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Rigshospitalet, Danmark

²Klinisk Immunologisk Afdeling, Rigshospitalet, Danmark

ramd@regionsjaelland.regionh.dk



Den første rapport om udbrud af en viral pneumoni i Wuhan Kina cirkulerede til WHO den 31. december 2019 (1). Den 30. januar 2020 erklærede WHO højeste beredskab. I midten af februar ramte sygdommen COVID-19 forårsaget af SARS-CoV-2 også Danmark (2).

Diagnostika-firmaer kunne imponerende hurtigt tilbyde tests til påvisning af virus RNA, men også assays til påvisning af specifikke total-immunglobulin (IgT), IgG og IgM antistoffer. I løbet af april og maj måned 2020 blev danske sygehuslaboratorier tilbudt assays til de automatiserede laboratorie platforme, som i forvejen blev anvendt.

Antistofassays kan bruges til epidemiologiske studier, til at måle vaccine respons og immunitet efter tidligere infektion. Diagnostisk bruges antistofmåling til udredning af patienter, som lider af mulige følgetilstande efter overstået coronavirus-infektion.

Det blev besluttet at udføre en validering af serologiske assays på et fælles materiale, som et nationalt samarbejde på tværs af specialer for at kunne sammenligne forskellige assays og opnå en god statistisk styrke (3). Det er en unik mulighed at validere serologiske assays på en ny sygdom, når der ikke er væsentlig baggrundsmunitet, og hvor der er adgang til arkivmaterialer fra umiddelbart før pandemien som negative kontroller.

Metoder

Materiale og design

Studiet var designet som case/control. Til det positive case-panel blev der indsamlet 150 cases fra patienter

med PCR verificeret SARS-CoV-2 infektion identificeret i den nationale mikrobiologi database (3,4). Prøverne blev indsamlet fra 3. til 11. maj 2020. I alt blev 3692 personer kontaktet og 639 personer (17%) responderede og fik taget blodprøver. De første 150 konsekutive prøver blev inkluderet i valideringen. Case-prøverne blev indsamlet, processeret og aliquoteret centralt og herefter distribueret til de deltagende laboratorier. Data på symptomdebut og klinisk sværhedsgrad blev indsamlet ved hjælp af et spørgeskema.

Til kontroller blev brugt arkiv-sera fra de danske blodbanker. Hver region brugte egne arkiv-bloddonorsera fra vintersæsonen 2018-2019. De 150 cases var således ens, mens bloddonor-kontrollerne var regionale sæt. For at undersøge krydsreaktivitet blev der analyseret 25-60 regionale prøver fra patienter med autoimmune sygdomme og IgM-seropositivitet for cytomegalovirus, Epstein-Barr virus og akutte respiratoriske sygdomme som influenza.

I alt 16 laboratorier på tværs af alle fem danske regioner og fra tre forskellige parakliniske specialer (Klinisk Mikrobiologi, Klinisk Immunologi og Klinisk Biokemi) samt tre danske universiteter og Statens Serum Institut deltog med 16 i alt forskellige assays (Tabel 1).

Statistik og databehandling

Data blev rapporteret fra de deltagende laboratorier i standardiserede regneark. Data blev herefter importeret i R til statistik og grafik med hjælp af Rstudio som brugergrænseflade (5,6). Til analyse af diagnostisk nøjagtighed anvendtes pakkerne pROC og mada (7,8).

Resultater

Ud af 150 cases havde de 149 relevante spørgeskemadata, der viste at 112 havde milde eller moderate symptomer, mens kun 31 havde været indlagt på sygehus, og 6 havde ingen symptomer. Tiden fra symptomdebut til blodprøve varierede fra 13 til 73 dage og var over 21 dage for 130 cases. Assays som

målte IgT havde sensitiviteter fra 92-97% og IgG assays varierede i sensitivitet fra 78% til 94% (Tabel 1). Sensitiviteter var korreleret til tid fra symptomdebut, og der fandtes højere sensitiviter >21 dage efter symptom debut (Tabel 1). Specificiteter fandtes over 99% for de fleste assay. IgM assays var meget forskellige med sensitiviteter fra 26-83%. Antistofudviklingen var også afhængig af sygdommens sværhedsgrad, og det var ikke alle de milde tilfælde, der udviklede detekterbare antistoffer.

Blandt 42 patienter med milde symptomer, som

ikke krævede sengeleje eller indlæggelse, var sensitiviteterne 80% for hovedparten af IgT assays og med større variation for IgG fra under 50% til godt 80%. Der sås næsten ingen krydsreaktivitet i sera fra patienter med autoimmune sygdomme, virussygdomme eller respiratoriske infektioner.

Diskussion

Danmark var og er et område med lav incidens af SARS-CoV-2, og der blev derfor på forhånd defineret kvalitetskriterier med en specificitet på mindst 99%

Tabel 1. Oversigt over assays med sensitiviteter og specificiteter.

Producent/Platform	Laboratorie	Sensitivitet %	Specificitet %	Sensitivitet % >21 dage
IgT				
Wantai ELISA	1, 10	96.7	99.5	97.6
In-house CUH/NOVO ELISA	2	96.0	99.5	95.9
Ortho CD Vitros	3	95.3	100.0	95.9
Siemens Atellica	4	93.2*	99.5	96.7
Roche Elecsys	5	92.7	99.1	95.9
	6	92.0	100.0	95.9
Siemens Vista	7	81.0*	100.0	81
IgG				
YHLO iFlash	8	94.0	99.3	95.9
Ortho CD Vitros	3	93.3	100.0	95.9
Abbott Architect	9	90.0	99.5	93.5
Abbott Alinity	10	89.3	99.3	93.5
	11	88.0		91.9
	12	88.0		91.9
EuroImmun ELISA	9, 10	78.0	99.2	82.9
Snibe Maglumi	13	78.4	99.2	82.8
	14	78.0		82.9
	4	75.3		81.0
Diasorin LiaisonXL	14	85.3	97.2	89.4
	15	84.7		88.6
	13	84.5		87.7
	16	82.0		87.0
IgM				
Wantai ELISA	14	82.7	99.0	
YHLO iFlash	15	42.0	99.7	
Snibe Maglumi	14	42	96.3	
	13	30.4		
	4	26.4		

Modificeret fra reference (3).

Allergy and autoimmunity testing – on a robust automated platform

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

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

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



We can connect with
major LAS suppliers*

Find out more at thermofisher.com/phadia

ThermoFisher
SCIENTIFIC

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

© 2020 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. 121619.SY.EU6.EN.v1.2020

målt i prøverne fra de præpandemiske bloddonorer. Da der er tale om en ny sygdom, er der en enestående mulighed for at have adgang til veldefineret materiale fra raske voksne, som ikke har været eksponeret for SARS-CoV-2. Der er ikke tegn til, at almindelige udbredt forkølelssygdom forårsaget af andre coronavira såsom 229E har givet væsentlig krydsreaktivitet overfor de anvendte SARS-CoV-2 antigener, og det er heller ikke fundet i litteraturen (9,10). Det må antages, at bloddonorer er ganske repræsentative for den voksne befolkning som helhed, og at der næppe er væsentlig risiko for krydsreaktiviteter i patientgrupper med andre akutte sygdomme, da de muligt krydsreagerende sera var gennemgående negative.

Sensitiviteten måles hos personer med kendt eksponering. Her forventes en større individuel variation i antistofreaktivitet afhængigt af tid fra sygdomsdebut og sygdommens sværhedsgrad, samt individuelle variationer. Reference-standarder i dette studie var SARS-CoV-2 PCR-positivitet, som har en høj specificitet, bekræftet ved at positiv-prævalensen kan blive ganske lav omkring 3 promille i danske rutineprøver fra perioder med lav sygdoms-prævalens (Upublicerede data fra klinisk mikrobiologisk afdeling i Slagelse og rapporter fra www.ssi.dk). Høj diagnostisk nøjagtighed af PCR er også fundet i et systematisk review, hvor sensitivitet af PCR var omkring 89% og specificitet omkring 99% (11).

Rekrutteringen af COVID-19 tilfælde fra en national database gav et bredt spektrum af tilfælde med hensyn til sværhedsgrad og varighed fra symptomdebut, selvom kun 17% af de kontaktede responderede. Det er hensigtsmæssigt i et studie, hvor der skal påvises forskelle i sensitivitet mellem assays. Hvis der overvejende rekrutteres i sen fase, ville alle tilfælde formentlig have være seropositive uanset det valgte assay. Således fandt en engelsk undersøgelse højere sensitiviteter hos en primært hospitalsindlagt kohorte, hvor prøver var taget mindst 20 dage fra symptomdebut, og de fandt en sensitivitet på 98%, når der var gået 30 dage eller mere fra symptomdebut, hvilket er meget højt (12).

Der mangler endnu studier som viser varigheden af den målbare antistofreaktivitet, og om dette kan korreleres til beskyttende immunitet. Studier af vaccination og smittede befolknings kohorter viser beskyttelse for over 80% mod klinisk sygdom (13,14). Efter vaccination er beskrevet blivende antistofreaktivitet i indtil videre 6 måneder (15).

Konklusion

Serologiske assays til påvisning af specifikke total Ig- og IgG-antistoffer har en høj diagnostisk nøjagtighed med specificitet typisk over 99% bedømt i præpandemiske prøver, og en sensitivitet >90% for at detektere tidligere PCR-positiv infektion - særligt mere end 3 uger efter symptomdebut. Dermed er antistofassays brugbare til at måle immunitet til epidemiologisk og klinisk brug. Det er historisk unikt at der var muligt at måle specificiteten for et serologisk assay i en immunologisk naiv population. Den hurtige validering af de mange serologiske assays lod sig kun gøre i kraft af et landsdækkende samarbejde mellem mange institutioner og på tværs af specialer.

Taksigelser: Alle deltagende forfattere og laboratorier takkes og læseren henvises til J Clin Microbiol doi:10.1128/JCM.02596-20 (3) for den detaljerede projekt beskrivelse.

Referencer

1. WHO. Timeline: WHO's COVID-19 response. 2021. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/interactive-timeline>
2. Statens Seruminstitut. COVID-19 – opdatering. EPI-NYT uge 9 2020. <https://www.ssi.dk/aktuelt/nyhedsbreve/epi-nyt/2020/uge-9--2020>
3. Harritshøj LH, Gybel-Brask M, Afzal S, et al. Comparison of sixteen serological SARS-CoV-2 immunoassays in sixteen clinical laboratories. J Clin Microbiol. 2021;59(5).
4. Voldstedlund M, Haahr M, Mølbak K, Representatives TMB of The Danish Microbiology Database (MiBa) 2010 to 2013. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES2014.19.1.20667>
5. R core team. A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.; 2020. www.r-project.org
6. Rstudio; 2020. Available from: <https://www.rstudio.com/>
7. Robin X, Turck N, Hainard A, et al. pROC: an open-source package for R and S+ to analyze

- and compare ROC curves. *BMC Bioinformatics*. 2011 Mar 17;12:77.
8. Doebbler P. mada: Meta-Analysis of Diagnostic Accuracy. 2020. CRAN.R-project.org/package=mada
 9. Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. Vol. 2020, *Cochrane Database of Systematic Reviews*. John Wiley and Sons Ltd; 2020.
 10. Mylemans M, Van Honacker E, Nevejan L, et al. Diagnostic and analytical performance evaluation of ten commercial assays for detecting SARS-CoV-2 humoral immune response. *J Immunol Methods*. 2021;493:113043.
 11. Mustafa Hellou M, Górská A, Mazzaferrri F, et al. Nucleic acid amplification tests on respiratory samples for the diagnosis of coronavirus infections: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021;27:341-51.
 12. Ainsworth M, Andersson M, Auckland K, Baillie JK, Barnes E, Beer S, et al. Performance characteristics of five immunoassays for SARS-CoV-2: a head-to-head benchmark comparison. *Lancet Infect Dis*. 2020;20:1390-400.
 13. Hansen CH, Michlmayr D, Gubbels SM, et al. Assessment of protection against reinfection with SARS-CoV-2 among 4 million PCR-tested individuals in Denmark in 2020: a population-level observational study. *Lancet*. 2021;397:1204-12.
 14. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med*. 2020;383:2603-15.
 15. Doria-Rose N, Suthar MS, Makowski M, et al. Antibody Persistence through 6 Months after the Second Dose of mRNA-1273 Vaccine for Covid-19. [Epub ahead of print] *N Engl J Med* Apr 6, 2021 as doi:10.1056/NEJMc2103916.



Mulige måder at reducere unødige analyser – HbA_{1c} og vitamin D som eksempel

Jens Kristian Munk

Klinisk Biokemisk afdeling, Amager og Hvidovre hospital

jens.kristian.munk@regionh.dk



Danske prognoser for de økonomiske konsekvenser af flere ældre samt øgning i forventet levealder forudsiger, at der skal allokeres flere ressourcer til sundhedsvæsenet for at opretholde standarden. Udgifterne forventes at øges med 2 % om året de næste 10 år. Denne udvikling nødvendiggør nye metoder til at begrænse unødvendige sundhedsomkostninger. Jeg beskriver her to metoder til at reducere prøvetallet ved brug af eksemplerne vitamin D og HbA_{1c}, som vi har arbejdet med på Hvidovre Hospital.

Vitamin D

Vitamin D er essentielt for knoglernes sundhed. Lave vitamin D-niveauer betragtes desuden som en risikofaktor for flere sygdomme. De mange facetter af vitamin D har betydet et øget fokus, som har medført et eksponentielt stigende forbrug af tests.

Region Hovedstaden omfatter 20 % af Danmarks befolkning. Her blev 1 ud af 500 borgere testet for vitamin D i 2004, mens dette var steget til 1 ud af 5 borgere i 2010. Denne massive stigning tyder på overforbrug og kalder på intervention.

Jeg beskriver her effekten af at indføre en pop-up hos de praktiserende læger i Region Hovedstaden, bortset fra Bornholm, som blev brugt som kontrolgruppe (1). Denne pop-up blev indført 1. januar 2017. I denne pop-up skulle rekvirenten vælge en indikation for at måle vitamin D hos patienten. Der kunne vælges mellem seks indikationer; ”Lav soleksponering/til-dækning”, ”Monitorering af vitamin D-behandling”, ”Knoglesmerter, osteoporose, neurale eller muskulære symptomer”, ”Hyperparathyreoidisme, hyper- eller hypocalcæmi”, ”Gastrointestinal malarabsorption” eller ”Andet”. Hvis ”Andet” valgtes skulle rekvirenten skrive en indikation.

Vi trak data ud fra alle praktiserende læger i region H i perioden 2016-2018. Der var 601.581 numeriske

vitamin D målinger fra 572 praktiserende læger, der var aktive i hele perioden. Heraf var der 9.637 målinger fra de 11 praktiserende læger, der udgjorde kontrolgruppen på Bornholm. Antallet af bestillinger indeholdende vitamin D fra de 561 praktiserende læger, som havde fået pop-up'en, blev sammenholdt med det totale antal bestillinger fra disse praktiserende læger. Herudfra kunne vi se hvilken andel af bestillinger, som indeholdt en vitamin D-bestilling. Figur 1 viser forskellen imellem disse fraktioner før pop-up'en i 2016 og efter pop-up'en var blevet hverdag i 2018. Det ses fra hældningen af korrelationen at fraktionen af bestillinger indeholdende vitamin D faldt fra 2016 til 2018 til ca. 75 %. Til sammenligning steg forbruget i kontrolgruppen til 133 % i samme periode. Hvis testgruppen, uden intervention, også ville være steget til 133 % svarer faldet til et forbrug på 56 % i forhold til før interventionen.

HbA_{1c}

HbA_{1c} er en meget pålidelig markør for glykeret hæmoglobin. Det er en indikator for den gennemsnitlige koncentration af glukose i blodet hen over en 3-måneders periode. Det har været anvendt til at evaluere glykæmisk kontrol i årtier, og i 2011 blev det godkendt som diagnostisk værktøj. Denne dobbelte anvendelse har ført til stadig stigende analyseantal. Optimalt set bør intervallet imellem målingerne reflektere den hastighed hvormed HbA_{1c}-koncentrationen kan ændre sig – men HbA_{1c} findes i flere analysepaneler og måles derfor ofte uden hensyntagen til, om det overhovedet kan lade sig gøre at HbA_{1c}-koncentrationen har ændret sig signifikant siden forrige måling.

Vi udtrak data fra KBA på Hvidovre Hospital, hvilket inkluderer omkring 40 % af de praktiserende læger i København. Perioden var 6. januar 2016 til 30. juni 2018. Patienter med kun én måling blev fjernet fra datasættet, og patienter hvis første observation lå indenfor 90 dage fra startdatoen blev også fjernet, da de kunne have fået målt HbA_{1c} før startdatoen, dvs. deres

første måling i datasættet kunne være en opfølgende måling. Der var 52.017 patienter tilbage. Disse blev opdelt i tre grupper alt efter om deres første måling lå lavt ($\text{HbA}_{1\text{c}} < 40$ mmol/mol Hgb), højt ($\text{HbA}_{1\text{c}} > 53$ mmol/mol Hgb) eller i gråzonen derimellem. Hver gruppe blev derpå opdelt i tre undergrupper afhængigt af, om deres efterfølgende måling indikerede et fald (større end den biologiske variation), en stigning (større end den biologiske variation), eller ingen ændring (indenfor den biologiske variation) i $\text{HbA}_{1\text{c}}$. Blandt patienter med høj initial $\text{HbA}_{1\text{c}}$ og som oplevede fald i $\text{HbA}_{1\text{c}}$ observerede vi at $\text{HbA}_{1\text{c}}$ faldt med en hastighed omkring 11 mmol/mol Hgb i løbet af fire uger. Blandt de patienter, der havde mellem eller højt $\text{HbA}_{1\text{c}}$ så vi en stigning på omkring 1 mmol/mol Hgb over fire uger. Da den kritiske forskel er 4 mmol/mol Hgb (2), vil det derfor tage omkring 16 uger for en $\text{HbA}_{1\text{c}}$ -måling kan være blevet kritisk højere. Vi så derefter på tidsintervallerne imellem målingerne for at anslå hvor mange procent af målingerne, der ville kunne aflyses ved at sætte en tidsblokering ind efter forskellige tidsrum. En blokering på fire uger ville betyde aflysning af 6 %, en blokering på 8 uger ville aflyse 12 % imens 23 % ville aflyses, hvis blokeringen var på 16 uger. Vi indførte en blokering på fire uger, med undtagelse af en opfølgende prøve modtaget på en patient hvor første prøve viste $\text{HbA}_{1\text{c}} \geq 48$ mmol/mol Hgb, idet der kunne være tale om en prøve til bekræftelse af en $\text{HbA}_{1\text{c}}$ der ville udløse en diabetesdiagnose.

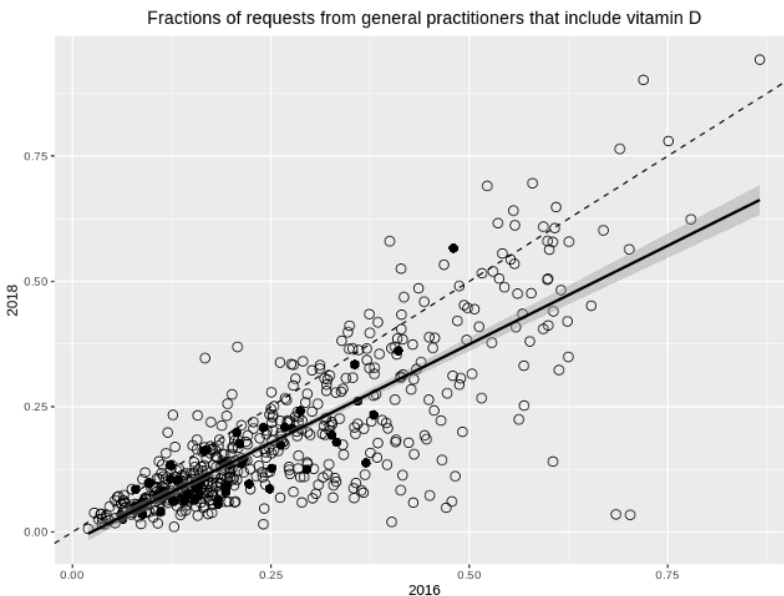
Konklusion

Jeg beskriver her to måder at forsøge at reducere prøveload på. For $\text{HbA}_{1\text{c}}$ har vi anvendt en direkte datadrevet metode til at indføre en tidsblokering på, ud fra at vi først kan bestemme en kritisk forskellig $\text{HbA}_{1\text{c}}$ -koncentration 16 uger efter forrige måling. Ud fra et forsigtighedsprincip satte vi tidsblokeringen til 4 uger. For vitamin D har vi indført en pop-up i almen praksis, som minder rekvisenten om Sundhedsstyrelsens retningslinjer for måling af vitamin D ved at kræve at en indikation vælges. Det har medført et markant knæk i kurven for prøveload.

Referencer

1. Munk JK, Bathum L, Jørgensen HL, et al. A compulsory pop-up form reduces the number of vitamin D requests from general practitioners by 25 percent. *Scand. J. Prim. Health Care* 2020; 38:308-14.
2. Munk JK, Lind BS, Jørgensen HL. Change in $\text{HbA}_{1\text{c}}$ concentration as decision parameter for frequency of $\text{HbA}_{1\text{c}}$ measurement. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2019;79:320-4.

Artiklen har tidligere været bragt i DSKB-Nyt 4, 2020 (Medlemsblad for Dansk Selskab for Klinisk Biokemi).



Figur 1: Korrelation mellem fraktion af rekvisitioner fra almen praksis indeholdende en vitamin D i 2016 (x-akse) sammenholdt med 2018 (y-akse). Hvert prik er en almen praksis. Fyldte prikker repræsenterer de 10 % af praksis, som har de højeste totale antal rekvisitioner. Den stiplede linje repræsenterer ingen ændring imellem 2016 og 2018. Den fuldt optrukne linje repræsenterer korrelationen mellem 2016 og 2018. Det grå område repræsenterer ± 1 SD. Gengivet med tilladelse fra SJCLI.

Knogletæthedsmåling og biomarkører til monitorering af osteoporosebehandling

Søren Bønløkke Pedersen*^{1,2}, Michael Schönemann Rand*^{1,2},

Pia A. Eiken^{3,4}, Niklas Rye Jørgensen^{1,4}

*Delt første forfatterskab

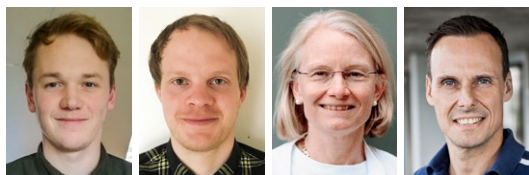
¹Odense Patient Data Explorative Network, Klinisk Institut, Syddansk Universitet

²Klinisk Biokemisk Afdeling, Rigshospitalet, Glostrup

³Endokrinologisk Afdeling, Bispebjerg Hospital, København

⁴Institut for Klinisk Medicin, Københavns Universitet

niklas.rye.joergensen@regionh.dk



Artiklen har tidligere været bragt i Ugeskrift for Læger 2018 Aug 6;180(32):V12170926, og godkendelse til publikation i Klinisk Biokemi i Norden er indhentet fra Ugeskrift for Læger.

Der er internationalt ikke opnået enighed om, hvordan patienter, som begynder i osteoporosebehandling, skal monitoreres. I Danmark monitoreres behandlingen primært via gentagne målinger af knoglemineraltæthed (BMD), som måles via dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA). Kun i mindre omfang monitoreres behandlingen med gentagne målinger af knoglemarkører (KM), som måles via automatiserede assays. Det er typisk ændringen i BMD og KM efter behandlingsstart, som anvendes til at vurdere det initiale behandlingsrespons (Figur 1).

Da osteoporose er en hyppig sygdom, som er forbundet med øget morbiditet og mortalitet [1], har det stor betydning for såvel individ som samfund, at den bedst egnede behandlingsmonitoreringstest anvendes i klinikken. Egnetheden kan vurderes ud fra nedenstående tre kriterier [2]: 1) Testens kliniske validitet – med testen skal man kunne prædikere behandlingens effekt på frakturrisikoen, 2) testens diskriminationsevne – med testen skal man hurtigt



Figur 1: Både knoglemineraltæthed- og knoglemarkørmålinger anvendes til monitorering af osteoporosebehandling i Danmark.

og klart kunne skelne respondere fra nonrespondere, og 3) testens praktiske anvendelighed – testen skal bl.a. være lettilgængelig og billig.

I denne artikel vil brugen af BMD og KM i monitoreringstest blive vurderet ud fra ovenstående kriterier. Artiklen er primært baseret på litteratur, som omhandler behandling med bisfosfonat, da dette er den hyppigst anvendte stofgruppe til behandling af osteoporose i Danmark. Der fokuseres på KM-serumprokollagen type I-N-propeptid (s-PINP), som er markør for knogleopbygning, og serum C-terminal-

telopeptid af type I-kollagen (s-CTX), som er markør for knoglenedbrydning, da International Osteoporosis Foundation (IOF) og International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine har anbefalet brugen af disse i kliniske forsøg [3].

Kan ændringer i knoglemineraltæthed, serum c-terminaltelopeptid af type I-N-kollagen og serumprokollagen type I-N-propeptid efter behandlingsstart prædiktere ændringer i frakturrisikoen?

Hvis ændringerne i BMD, s-CTX og s-PINP skal prædiktere ændringen i frakturrisikoen efter behandlingsstart, må ændringerne i disse biomarkører være stærkt associeret til behandlingens effekt på frakturrisikoen eller forklare en væsentlig andel af denne. Associationen imellem ændringen i BMD og frakturrisiko efter påbegyndelse af forskellige typer antiresorptiv behandling er undersøgt i flere meta-analysestudier [4-7], men resultaterne af disse har været inkonsistente, og der er blevet manet til forsigtighed med fortolkningen heraf [8]. Flere analyser, der er baseret på individuelle patientdata, har vist, at ændringen i BMD er associeret til ændringen i den vertebrale frakturrisiko [5, 9-14]. Eksempelvis viste et studie af Miller et al [12] en relativ risikoreduktion på 7,9% (95% konfidens-interval (KI): 2,1-13,5%) for vertebrale frakturer for hver procentvis øgning i total hofte-BMD efter tre års peroral behandling med ibandronsyre. Studier har endvidere vist, at personer, hvis BMD stiger under behandling med alendronat, risedronat og zoledronsyre, har en lavere risiko for at få vertebrale frakturer, end personer, hvis BMD falder under behandlingen [10, 11, 14]. Et studie viste en reduktion i den vertebrale frakturrisiko på 49% (95% KI: 21-67%) blandt de kvinder, hvis BMD i ryggen steg 0-5% under risedronatbehandling, sammenlignet med de kvinder, hvis BMD faldt under behandlingen [14]. Ændringerne i BMD har i prospektive studier kunnet forklare 11-42% af behandlingens effekt på den vertebrale frakturrisiko [5, 10, 12-14]. I de fleste studier [9, 15, 16] har der ikke kunnet påvises nogen association imellem ændringen i BMD og ændringen i den nonvertebrale frakturrisiko efter påbegyndelse af bisfosfonatbehandling, mens man i enkelte dog har fundet en sådan association [10, 17].

Flere studier har vist, at ændringen i KM er associeret til ændringen i den vertebrale frakturrisiko efter påbegyndelse af bisfosfonatbehandling [9, 10].

Et studie viste, at kvinder, som havde et fald i s-PINP efter 12 måneders behandling med zoledronsyre, havde en lavere vertebrale frakturrisiko, end kvinder som havde en stigning i s-PINP (oddsratio (OR): 0,22; 95% KI: 0,05-0,88). I studiet forklarede 12-månedersændringen i s-PINP 58% (95% KI: 15-222 %) af behandlingens effekt på den vertebrale frakturrisiko [10]. Et andet studie viste, at kvinder, som havde et fald i s-PINP på over 30% efter et års alendronatbehandling, hvilket drejer sig om 81% af de behandlede, havde en lavere risiko for vertebrale frakturer, end dem, som havde et fald på 30% eller derunder (OR: 0,45; 95% KI: 0,30-0,70) [9]. Samme studie viste, at for hver standarddeviation s-CTX faldt efter et års alendronatbehandling, blev den vertebrale frakturrisiko reduceret med 17% (95% KI: 5-27%) [9]. Ændringer i urin-CTX efter 3-6 måneders risedronatbehandling har vist sig at kunne forklare 67% (95% KI: 35-100%) af behandlingens effekt på den vertebrale frakturrisiko over tre år [18]. De studier, hvor man har undersøgt, om ændringer i s-CTX er associeret til ændringen i den nonvertebrale frakturrisiko, har haft inkonsistente resultater [9, 17]. Sammenhængen imellem ændringen i s-PINP og ændringen i den nonvertebrale frakturrisiko efter påbegyndelse af bisfosfonatbehandling er kun blevet undersøgt i ét studie, som viste, at kvinder, der havde et fald i s-PINP på over 70% efter et års alendronatbehandling, havde en signifikant lavere nonvertebrale frakturrisiko, end kvinder, som havde et fald på under 70% (HR: 0,63; 95% KI: 0,46-0,88) [9].

Fortsættes side 24...



cobas® pro integrated solutions

Simplicity meets Excellence



**Automated
maintenance**



**Predictive
loading list**



**cobas®
SonicWash**

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

www. Roche.dk/diagnostics

MC-DK-00084



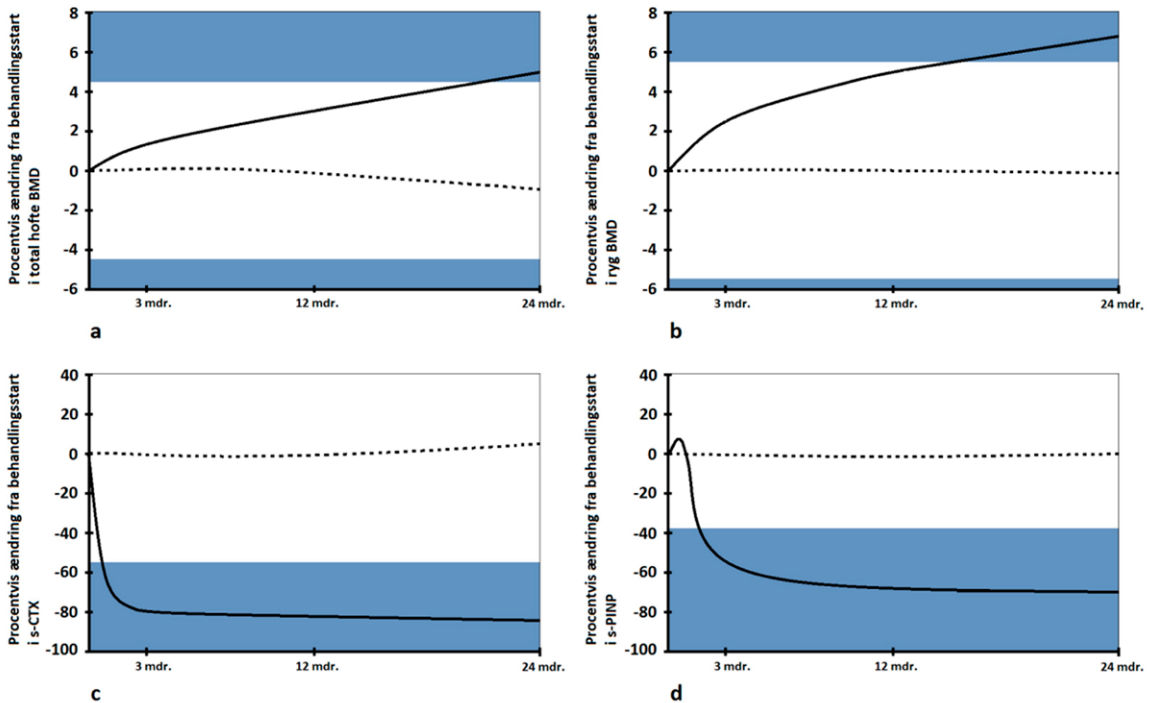
**Loading
on the fly**



**cobas®
AutoCal**



**cobas®
mobile solution**



Figur 2: Det typiske forløb af knoglemineraltæthed (BMD)- og knoglemarkørændringer i forbindelse med alendronatbehandling baseret på en række publicerede randomiserede, kontrollerede, kliniske forsøg. A + B. Ændringerne i BMD hos kvinder med osteoporose efter påbegyndelse af behandling med alendronat, kalk og D-vitamin. C + D. Ændringerne i C-terminaltelopektid af type I-kollagen (s-CTX) og serumprokollagen type I-N-propeptide (s-PINP) efter påbegyndelse af behandling med alendronat, kalk og D-vitamin. Det blå markerede område repræsenterer least significant change (LSC)-tærskelværdien.

— Alendronat behandlede
 - - - Placebo (kalk + vitamin D)
 ■ Ændringer større end LSC

...Fortsæt fra side 21

De studier, hvor man har undersøgt både associationen imellem ændringerne i BMD og frakturrisiko og ændringerne i s-CTX/s-PINP og frakturrisiko, har indikeret, at ændringerne i s-CTX og s-PINP er mindst lige så vigtige prædiktorer for behandlingens effekt på frakturrisikoen, som ændringerne i BMD er [9, 10, 17].

Hvor hurtigt kan man med monitoreringstestene skelne respondere fra nonrespondere?

For at kunne vurdere hvornår det er passende at udføre en monitoreringstest, må testens præcision og den intrapersonelle variation for testmarkøren kendes. Herudfra kan den mindste ændring i testmarkøren, som kan anses for at være signifikant (least significant change (LSC)), udregnes. Efter påbegyndelse eller ændring af en behandling vil det generelt

først være passende at udføre monitoreringstesten, når testmarkøren kan forventes at have ændret sig mere end LSC.

For måling af BMD er størrelsen af LSC i høj grad afhængig af måleudstyret og udførelsen af målingen, hvorfor LSC varierer imellem behandlingssteder [19, 20]. I klinisk praksis er LSC omkring 4,4% for total hoft-BMD og 5,5% for ryg-BMD [21, 22]. En stigning i BMD i denne størrelsesorden kan generelt tidligst forventes efter 1-2 års bisfosfonatbehandling [23-26] (Figur 2). De randomiserede kliniske forsøg, hvor man har undersøgt effekten af bisfosfonater, har endvidere vist, at faldet i BMD i placebogrupeerne, som fik kalk og D-vitamin, skete meget langsomt [23], hvorfor der ofte går flere år inden et signifikant fald i BMD kan detekteres hos en patient med manglende behandlingsrespons. Uanset om man definerer

behandlingsrespons som en signifikant stigning i BMD eller som manglen på et signifikant fald i BMD er det pga. ovenstående generelt uhensigtsmæssigt at måle BMD inden for de to første behandlingsår, da respondere sjældent vil kunne skelnes fra nonrespondere på dette tidspunkt.

For måling af s-PINP og s-CTX er størrelsen af LSC i særlig grad knyttet til præanalytiske faktorer som f.eks. komorbiditet, madindtag og tidspunkt på døgnet [27]. De to sidstnævnte faktorer er især af betydning for variationen i s-CTX, hvorfor måling heraf bør ske om morgenen med patienten fastende [27], da de højeste værdier pga. udtalt døgnvariation måles tidligt om morgenen. I TRIO-studiet, hvor man undersøgte alendronat, ibandronsyre og risedronats effekt på KM, fandtes LSC for s-CTX og s-PINP at være henholdsvis 56% og 38% [28]. I studiet var det gennemsnitlige fald i s-CTX og s-PINP efter 12 ugers behandling på henholdsvis 73-81% og 48-63% afhængigt af, hvilket bisfosfonat patienten var i

behandling med. Hos 84-98% af forsøgsdeltagerne var faldet i s-CTX større end LSC, og hos 75-94% af forsøgsdeltagerne var faldet i s-PINP større end LSC, igen afhængig af bisfosfonatypen. Hvis behandlingsrespons defineres som et signifikant fald i s-CTX eller s-PINP, vil det derfor være muligt at skelne respondere fra nonrespondere allerede 12 uger efter påbegyndt behandling (Figur 2).

Testenes praktiske anvendelighed

De væsentligste faktorer, som har betydning for den praktiske anvendelighed af brugen af BMD, s-CTX og s-PINP i en monitoreringstest er beskrevet i Tabel 1.

Diskussion

Den ideelle behandlingsmonitoreringstest prædikterer behandlingens effekt på frakturrisikoen, skelner hurtigt og klart respondere fra nonrespondere og er praktisk anvendelig. Flere studier indikerer, at de behandlingsinducerede ændringer i BMD, s-CTX og

Tabel 1: Oversigt over faktorer af betydning for den praktiske anvendelighed af knoglemineralitet og knoglemarkører til monitorering.

	BMD	S-CTX og s-PINP
Tilgængelighed	DEXA-skannere findes på alle større hospitaler i Danmark Patienter indkaldes ambulant til skanning Ventetid er typisk få uger, men den kan være > ½ år	Analyseres aktuelt kun rutinemæssigt i Region Hovedstaden og Region Sjælland Blodprøve tages i klinisk biokemiske ambulatorier men vil potentielt kunne tages hos egen læge Normalt kort ventetid
Pris	1.076 kr./skanning	Ca. 75 kr./markør
Patientens forberedelse	Kræver ingen specifik forberedelse	S-CTX: møder fastende om morgenen S-PINP: ingen specifik forberedelse
Tidsforbrug	DEXA-skanning kan tage op til 20 min Herudover skal der afsættes tid til fortolkning af skanning	Som ved normal blodprøvetagning
Fortolkning	Skanning fortolkes typisk af hospitalslæger som er oplært heri inden svar hvis relevant sendes til egen læge	Blodprøvesvar kan sendes direkte til patientens egen læge uden forudgående fortolkning
Risiko	Meget beskedne røntgenstrålingsdosis	Som risiko ved en normal blodprøvetagning

BMD = knoglemineralitet; CTX = C-terminaltelopektid type I-kollagen; DEXA = dual-energy X-ray absorptiometry; KM = knoglemarkører; PINP = prokollagen type I-N-propeptid; s- = serumkoncentration af.

s-PINP kan prædiktere bisfosfonaters effekt specielt på den vertebrale frakturrisiko. Studierne er heterogene, og i mange har man ikke undersøgt den egentlige prædiktive værdi af BMD-/KM-ændringerne, idet frakturer, som opstår imellem baseline- og followupmålingerne, generelt medinddrages i analyserne. Der er behov for yderligere studier, hvor der tages højde for dette, og hvor den prædiktive værdi af BMD-/KM-ændringer sammenlignes head to head.

Bisfosfonaters kraftige og hurtige virkning på s-CTX og s-PINP bevirker, at behandlingsresponsen kan vurderes ved blodprøver allerede 12 uger efter behandlingsstart, hvilket står i stærk kontrast til de 1-2 år, som klinikerne og patienten typisk må vente, når BMD anvendes til behandlingsmonitorering. En tidlig vurdering af behandlingsresponsen kan være af særlig betydning, da komplianceproblemer, som er den hyppigste årsag til manglende behandlingsrespons hos patienter med osteoporose, typisk opstår tidligt i behandlingsforløbet [29]. En arbejdsgruppe under IOF og the European Calcified Tissue Society har derfor også anbefalet, at ændringerne i s-CTX



Foto: Henrik Alfthan.

og s-PINP anvendes til screening for adhræns til perorale bisfosfonater [30]. Patienten kan selvfølgelig spørges om compliance, men da selv små afvigelser fra de korrekte administrationsinstruktioner kan forringe behandlingsresponsen, kan patienten have dårlig effekt af behandlingen på trods af korrekt indtaget dosis. Særligt geriatriske patienter, som er stærkt repræsenteret i den osteoporotiske patientgruppe, må antages at være i risiko for administrationsfejl pga. polyfarmaci. Af ovenstående grunde er det ønskværdigt at have en paraklinisk markør for compliance og behandlingseffekt. P.t. er brugen af s-CTX og s-PINP primært begrænset af analysernes tilgængelighed i Danmark. Ses der bort herfra, er den praktiske anvendelighed af KM bedre end anvendeligheden af BMD: Prisen pr. knoglemarkøranalyse er en tiendedel af prisen for en DEXA-skanning, markørerne kan måles i en almindelig veneblodprøve, som potentielt kan tages hos patientens egen læge, og prøvesvaret kræver ikke fortolkning af en hospitalslæge.

Konklusion

I monitoreringssammenhæng har brugen af s-CTX og s-PINP en række fordele frem for brugen af BMD, specielt kan behandlingsresponsen vurderes langt tidligere i behandlingsforløbet. Brugen af KM vil derfor formodentlig kunne bidrage til at gøre osteoporosebehandlingen mere effektiv. Man har ikke i nogen studier undersøgt, om monitorering af bisfosfonatbehandling med BMD eller KM nedsætter frakturrisikoen blandt osteoporosepatienter, og om monitoreringen i givet fald er omkostningseffektiv. Indtil studier heraf foreligger, bør det tilstræbes, at klinikernes kendskab til brugen af KM øges, og at analyserne bliver bredere tilgængelige i Danmark.

Referencer

Her bringes de 20 vigtigste. Oplysninger om øvrige referencer kan fås ved henvendelse til forfatterne.

1. Hernlund E, Svedbom A, Ivergård M et al. Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. Arch Osteoporos 2013;8:136.
2. Bell KJL, Glasziou PP, Hayen A et al. Criteria for monitoring tests were described: validity, responsiveness, detectability of long-term

- change, and practicality. *J Clin Epidemiol* 2014;67:152-9.
3. Vasikaran S, Eastell R, Bruyère O et al. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. *Osteoporos Int* 2011;22:391-420.
 4. Wasnich RD, Miller PD. Antifracture efficacy of antiresorptive agents are related to changes in bone density. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:231-6.
 5. Cummings SR, Karpf DB, Harris F et al. Improvement in spine bone density and reduction in risk of vertebral fractures during treatment with antiresorptive drugs. *Am J Med* 2002;112:281-9.
 6. Hochberg MC, Greenspan S, Wasnich RD et al. Changes in bone density and turnover explain the reductions in incidence of nonvertebral fractures that occur during treatment with antiresorptive agents. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1586-92.
 7. Delmas PD, Seeman E. Changes in bone mineral density explain little of the reduction in vertebral or nonvertebral fracture risk with anti-resorptive therapy. *Bone* 2004;34:599-604.
 8. Delmas P, Li Z, Cooper C. Relationship between changes in bone mineral density and fracture risk reduction with antiresorptive drugs: some issues with meta-analyses. *J Bone Miner Res* 2003;19:330-7.
 9. Bauer DC, Black DM, Garnero P et al. Change in bone turnover and hip, non-spine, and vertebral fracture in alendronate-treated women: the fracture intervention trial. *J Bone Miner Res* 2004;19:1250-8.
 10. Jacques RM, Boonen S, Cosman F et al. Relationship of changes in total hip bone mineral density to vertebral and nonvertebral fracture risk in women with postmenopausal osteoporosis treated with once-yearly zoledronic acid 5 mg: The HORIZON-Pivotal Fracture Trial (PFT). *J Bone Miner Res* 2012;27:1627-34.
 11. Hochberg MC, Ross PD, Black D et al. Larger increases in bone mineral density during alendronate therapy are associated with a lower risk of new vertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis. *Arthritis Rheum* 1999;42:1246-54.
 14. Watts NB, Cooper C, Lindsay R et al. Relationship between changes in bone mineral density and vertebral fracture risk associated with risedronate: greater increases in bone mineral density do not relate to greater decreases in fracture risk. *J Clin Densitom* 2004;7:255-61.
 16. Watts NB, Geusens P, Barton IP et al. Relationship between changes in BMD and non-vertebral fracture incidence associated with risedronate: reduction in risk of nonvertebral fracture is not related to change in BMD. *J Bone Miner Res* 2005;20:2097-04.
 17. Eastell R, Vrijens B, Cahall DL, et al. Bone turnover markers and bone mineral density response with risedronate therapy: relationship with fracture risk and patient adherence. *J Bone Miner Res* 2011;26:1662-9.
 18. Eastell R, Barton I, Hannon R et al. Relationship of early changes in bone resorption to the reduction in fracture risk with risedronate. *J Bone Miner Res* 2003;18:1051-6.
 23. Black DM, Delmas PD, Eastell R et al. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2007;356:1809-22.
 26. Paggiosi MA, Peel N, McCloskey E et al. Comparison of the effects of three oral bisphosphonate therapies on the peripheral skeleton in postmenopausal osteoporosis: the TRIO study. *Osteoporos Int* 2014;25:2729-41.
 27. Eastell R, Szulc P. Use of bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2017;5:908-23.
 28. Naylor KE, Jacques RM, Paggiosi M et al. Response of bone turnover markers to three oral bisphosphonate therapies in postmenopausal osteoporosis: the TRIO study. *Osteoporos Int* 2016;27:21-31.
 30. Diez-Perez A, Naylor KE, Abrahamsen B et al. International Osteoporosis Foundation and European Calcified Tissue Society Working Group. Recommendations for the screening of adherence to oral bisphosphonates. *Osteoporos Int* 2017;28:767-74.

Kolde facts om kryoproteiner

Mie Samson

Blodprøver og Biokemi

Aarhus Universitetshospital

miesamso@rm.dk



Baggrund

I januar 2020 lige inden verden gik af lave, var specialist Bodil Lauge og undertegnede en tur i Birmingham, UK til "Cryoglobulin, Analysis & Interpretation, Masterclass 2020" afholdt af UK NEQAS og mesteren indenfor kryoproteiner

Dr Joanna Sheldon, Protein Reference Unit, St. George's Hospital. Kort tid forinden havde vi tilmeldt os et nyt eksternt kontrolprogram hos UK NEQAS administreret af Dr Sheldon. Programmet udsender billeder af prøver og beder deltagerne tage stilling til videre undersøgelser samt svarafgivelse. Deltagelsen i programmet gjorde det klart for os, at vi nok havde lidt at lære endnu. Mere om det senere.

Hvad er et kryoprotein?

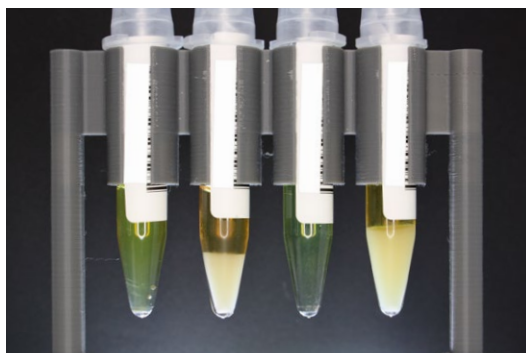
Et kryoprotein er ganske enkelt et protein, der udfælder ved temperaturer mindre end 37 °C, se figur 1. Enkelt. Men, jo mere man herfra dykker ned i den kolde suppe, jo mere kompliceret bliver det. Lad

os starte med at slå fast, at kryoproteiner ikke er det samme som kuldeagglutiner. Sidstnævnte er immunoglobuliner, der forårsager agglutination af erythrocytter, og er noget immunologer går op i ved erythrocyttransfusioner. Ofte er det dog de samme patienter, der har kryoproteiner og kuldeagglutiner.

Nomenklaturen er ikke stringent, men en logisk og anerkendt måde at benævne og klassificere kryoproteiner på fremgår af tabel 1. Kryoproteiner kan således opdeles i kryoglobuliner, der består af immunoglobuliner, og kryofibrinogen, der består af fibrinogen. Begge typer indeholder formentlig også yderligere forskellige proteiner. Kryoglobuliner underinddeles i Type I, II og III. Type I er den klassiske kryoglobulinæmi beskrevet første gang af Wintrobe og Buell i 1933 hos en patient med myelomatose. Præcipitatet, som ofte er af en betydelig størrelse, består af monoklonalt immunoglobulin, hyppigst af typen IgM, sjældnere IgG og IgA, mens der ikke findes beskrivelser af IgD og IgE. Type II består også af monoklonalt immunoglobulin, ofte IgM med reumafaktoraktivitet i en blanding med polyklonalt IgG. Mens Type I

Kryoprotein	Bestanddele	Precipitering	Mængde af præcipitat	Klinisk billede
Kryoglobulin Type I	Monoklonalt IgM > IgG (3) >IgA	In vivo og in vitro	Høj (ofte >30 g/L)	Præcipitation i mikrocirkulationen hyperviskositet og kuldeinduceret necrose
Kryoglobulin Type II	Monoklonalt IgM med RF aktivitet + polyklonalt IgG	In vitro	Moderat (1-5 g/L)	Immunkompleks-medieret vaskulitis
Kryoglobulin Type III	Polyklonalt IgM med RF aktivitet + polyklonalt IgG	In vitro	Lav (svært at kvantificere)	Immunkompleks-medieret vaskulitis
Kryofibrinogen	Fibrinogen	In vivo og in vitro	Variierende	Kan opføre sig som Type I, II eller III

Tabel 1. Klassifikation af kryoproteiner. RF = reumafaktor



Figur 1. Eksempel på prøve med påvist kryoglobulin. Fra venstre serum 37 °C, serum 4 °C, plasma 37 °C og plasma 4 °C.

ofte forårsager præcipitation i mikrocirkulationen med nekroser til følge, giver Type II symptomer på baggrund af immunmedieret vaskulitis. Type III forårsager også vaskulitis med samme mekanisme, men til forskel fra Type II indeholder præcipitatet ikke monoklonale, men udelukkende polyklonale immunoglobuliner. Endelig har vi kryofibrinogen.

Kryofibrinogen er "Terra incognita" som forfatteren til et review om kryofibrinogen skriver (1). Lidt vides der dog. Man har fundet at patienter med isoleret kryofibrinogenæmi (det ses nemlig også ofte sammen med kryoglobulinæmi) har en høj prævalens af symptomer, der kan tilskrives enten præcipitation i mikrocirkulationen eller immunmedieret vaskulitis. Langt de fleste tilfælde er dog asymptomatiske. Hvor farligt kryoproteinæmi er, er nok svært at sige, men der mangler ikke case stories der beskriver fatale tilfælde, fx (2).

Hvis vi ser bort fra kryofibrinogenæmi, så er der en hvis viden om de tilgrundliggende patologier. Type I kryoglobulinæmi er således oftest associeret med hæmatologisk malignitet (3). Og, et studie af ikke-HCV-positive patienter med type II og III kryoglobulinæmi-vaskulitis viste at 21% havde Sjögrens Syndrom, 11% SLE, 11% anden autoimmunitet, 7% lymfoproliferativ sygdom, 2% solide tumorer, 9% var HBVag-positive og 39% var uden kendt årsag (4).

Hvor hyppigt er det så?

Det er sparsomt med data vedrørende incidens og prævalens. Der er dog en vis enighed om, at hos patienter med Hepatitis C (HCV) har 40-60% detekterbare kryoproteiner og ca. 5-10% af disse vil have kliniske manifestationer (5). Men, da HCV ikke er

så udbredt i Danmark som i mange andre lande, gør det måske udsagnet mindre interessant. For kryofibrinogen har et stort studie påvist kryofibrinogen hos ca. 3% af alle raske, men kun en meget lille andel af disse havde symptomer. Det føromtalt review (1) konkluderer: "Den kliniske signifikans og sande prævalens er tilsyneladende undervurderet". Måske har de ret. Et helt nyt spansk studie viser således en høj forekomst af kryofibrinogenæmi hos COVID-19 patienter med Chilblains (smertefulde kuldeinducerede hudlæsioner) (6). Hvis vi slutteligt kigger på vores egen afdeling, så har vi de seneste 6 måneder haft 199 rekvisitioner, hvoraf det er lykkedes at tage prøven korrekt de 140 gange. For både kryoglobulin og kryofibrinogen var positivraten ca. 7%. Det siger ikke meget om prævalens og klinisk betydning, nok kun at det ikke er en sjælden analyse, og at den ganske ofte er positiv.

Hvorfor og hvordan diagnosticeres kryoproteiner?

Med alle disse usikkerheder, hvorfor tror vi så stadig, at diagnosticering af kryoproteinæmi er en vigtig opgave? Type I kryoglobulinæmi, er den mest åbenlyse case. Patienterne har oftest myelomatose eller lymfomer, og den primære behandling er af deres grundsygdom. Men, derudover kan der være tale om plasmaferese ved akutte exacerbationer. For de andre typer gælder det også, at behandling af en tilgrundliggende sygdom er det vigtigste (fx HCV). Men, der er efterhånden også flere studier, der viser at immundæmpende behandling i form af Rituximab kan have god og endda livsreddende effekt (3).

Således overbeviste om analysens berettigelse kan vi fortsætte til det praktiske. I mange år var analyseforskriften ganske kort. To serum- og to EDTA-glas tages og centrifugeres varmt, afpipeteres. Et rør med hver materialetype opbevares ved 37°C de andre i køleskab. Kig efter bundfald på 7. dagen. Bundfald i begge glas = "Kryoglobulin påvist", bundfald kun i plasma = "kryofibrinogen påvist". Ved påvist kryoglobulin udføres typebestemmelse.

Efter besøget i Birmingham er den blevet noget længere. Allerede inden besøget var vi dog meget opmærksomme på analysens achilleshæl. Et temperaturfald på blot nogle få grader kan bevirke at kryoproteinerne udfældes og opfanges af koaglet. Vi var faktisk langt foran Birmingham (ligesom andre klinisk biokemiske afdelinger i Danmark også er det). Vi tager blodprøven hurtigst muligt i præopvarmede

rør, helst ved brug af en kanyle uden slange, hvorefter, rørene transporteres varmt i vores CarryTherm (Mikrolab Aarhus A/S) (figur 2). I Birmingham anvender de hjemmelavede ”sokker” af isoleringsmateriale fra vandrør, som de transporterer i en termoflaske med opvarmet sand.

Der hvor vores instruks i dag er ændret, gælder især nedenstående:

- Vi dokumenterer den visuelle vurdering i form af fotografi (vores dygtige biokemiker har udviklet et helt særligt fotokammer), og arbejder på denne måde for en standardiseret og objektiv vurdering (figur 1).
- Vi har gennemgået hele processen med hensyn til optimale tider og temperaturer for opbevaring og centrifugering, ligesom vi har ændret processen for isolering og genopløsning af præcipitatet. Begge disse tiltag for at øge reproducerbarhed og sensitivitet.
- Vi verificerer fund af kryofibrinogen ved immunfixation, og nedbringer dermed risikoen for falsk positive svar.
- Vi kvantificerer det monoklonale immunoglobulin ved hjælp af kapillærelektroforese, og giver derved mulighed for monitorering og vurdering af behandlingseffekt.

Vi er stadig i færd med findpudsning af arbejdsgange, instrukser og valideringsrapport. Men, derudover er der stadig arbejde forude. Vi kunne godt tænke os, (ligesom Dr Joanna kan) sammen med svaret at give et bud på om et påvist kryoglobulin er Type I,



Figur 2. CarryTherm, Mikrolab Aarhus A/S

II eller III. Det vil kræve analysering af reumafaktor samt komplementfaktorene C3 og C4 på varme prøver. Derudover vil det blive en større (intellektuel og tidsmæssig) opgave at udforme svar. Vi ser også på muligheden for at modtage prøver fra andre sygehuse, idet prøverne jo fint kan sendes efter centrifugering. Og uanset hvad, må det være et mål at få analysen harmoniseret på nationalt plan. Endelig tror jeg, vi er ved at være der, hvor vi skal ud i den kliniske virkelighed her i Danmark, og snakke med vores kliniske kolleger om, hvad der er brug for.

Afslutningsvist kan man sige, at vi føler vi er kommet et godt stykke vej i forhold til kvalitet på et svært standardiserbart område. Men, som det ofte er, når man lærer nyt, sidder vi tilbage med nye spørgsmål vedrørende indikation og svarafgivelse. Så der kommer forhåbentligt flere kolde facts hen ad vejen.

Referencer

1. Moiseev S, Luqmani R, Novikov P, et al. Cryofibrinogenaemia-a neglected disease. *Rheumatology (Oxford)* 2017;56:1445-51.
2. Abdel-Gadir A, Patel K, Dubrey SW. Cryoglobulinaemia induced digital gangrene in a case of hepatitis C. *BMJ Case Rep* 2010;2010.
3. Desbois AC, Cacoub P, Saadoun D. Cryoglobulinemia: An update in 2019. *Joint Bone Spine* 2019;86:707-713.
4. Galli M, Oreni L, Saccardo F, et al. HCV-unrelated cryoglobulinaemic vasculitis: the results of a prospective observational study by the Italian Group for the Study of Cryoglobulinaemias (GISC). *Clin Exp Rheumatol* 2017. 35 Suppl 103:67-76.
5. Artemova M, Abdurakhmanov D, Krasnova T, et al. Genetic and clinical data predict onset of cryoglobulinemia in HCV patients and cryoglobulins clearance. *Dig Liver Dis* 2018;50:318-20.
6. Gomez-Fernandez C, López-Sundh AE, González-Vela C, et al. High prevalence of cryofibrinogenemia in patients with chilblains during the COVID-19 outbreak. *Int J Dermatol* 2020;59:1475-84.

Artiklen har tidligere været bragt i DSKB-Nyt 1, 2021 (Medlemsblad for Dansk Selskab for Klinisk Biokemi).

Last call for applications to NOBIDA

Nils Bolstad¹, Jón Jóhannes Jónsson², Veli Kairisto³, Fredrik Bökman⁴, Henrik L. Jørgensen⁵, Morten Pedersen⁶
nilbol@ous-hf.no

¹NOBIDA committee representative Norway

²NOBIDA committee representative Iceland

³NOBIDA committee representative Finland

⁴NOBIDA committee representative Sweden

⁵Chairman NFKK

⁶DEKS

The Nordic Reference Interval Project Bio-bank and Database (NOBIDA) was established as part of the Nordic Reference Interval Project 2000 (NORIP) and contains aliquoted samples and data from more than 3000 donors from the Nordic countries (1, 2). The samples (serum, Li-heparin plasma and EDTA buffy coat) and data have been used in a number of research and quality projects and are still available to researchers and medical laboratories “for any purpose beneficial to the development of clinical biochemistry in general and particularly for creating reference intervals”. Applications for the use of samples and data are evaluated by the NOBIDA committee (on behalf of NFKK). DEKS is responsible for the storage and handling of samples and data.

The members of the NOBIDA committee, in a joint decision with the chairman of NFKK Henrik L. Jørgensen and Morten Pedersen from DEKS, have concluded that it is time to close NOBIDA. The background for closing NOBIDA is the increasing age and reduced availability of samples, balanced against the cost of maintaining the biobank. The committee will accept applications for samples until June 30th, 2021 (application form available on <http://nyenga.net/norip/nobida/index.htm> or by e-mail to Nils Bolstad, nilbol@ous-hf.no). After this date, when any applications have been processed, remaining samples in the biobank will be discarded.

In addition to NOBIDA, NFKK Reference Serum X (Serum X) was also established in connection with NORIP (3). In Serum X, 16 components are assigned traceable values and 12 components are assigned indicative values. It can be used, not only to establish or verify traceability for measurement systems to the reference

intervals found in NORIP, but also for many other purposes such as the validation of calibrations etc. Originally, 4000 vials of 5 mL were produced of which approximately 16% are left. Serum X can be obtained from DEKS (www.deks.dk), Labquality (www.labquality.fi) and Noklus (www.noklus.no). The use of Serum X has declined over the years and the remaining stock is therefore estimated to last several years. The NFKK board has discussed the possibility of creating a successor to serum X, but this has not been decided.

References

1. Rustad P, Simonsson P, Felding P, et al. Nordic reference interval project bio-bank and database (nobida): A source for future estimation and retrospective evaluation of reference intervals. *Scand J Clin Lab Invest* 2004;64:431-8.
2. NORIP website: <http://nyenga.net/norip/index.htm>
3. Henriksen G M, Pedersen MM, Nørgaard I, et al. Minimally processed fresh frozen human reference sera: preparation, testing, and application to international external quality assurance *Scand J Clin Lab Invest*. 2004;64:293-308.



Kvalitetsmål på laboratorienivå

Anders Larsson

Klinisk Kemi och Farmakologi, Akademiska Sjukhuset, Uppsala

anders.larsson@akademiska.se



Alla vi på laboratorierna strävar efter att ständigt förbättra oss. Även små förbättringar är viktiga. Det är lätt att säga att vi förbättrar oss, men samtidigt kan det vara bra att ha några mått som man kan mäta och på så sätt verkligen visa att vi blivit bättre. Ofta använder

vi sådana mått som antal producerade analysresultat och budget som uppföljningsredskap. Fler producerade analyser är ett intressant mått för oss på laboratoriet men även att vi håller budget. Det här är mått som vi normalt får fram enkelt och är tydliga, men de säger inte så mycket om kvaliteten.

Kvalitet är ett lite flytande begrepp som betyder lite olika saker för olika personer. När de gäller kvalitetsmål i det här sammanhanget pratar vi oftast om vad våra beställare upplever som god kvalitet som tex snabba svar och minimalt med felaktiga analysresultat. Samtidigt så har vi alla en pressad arbetssituation så vi kan inte lägga alltför mycket tid på kvalitetsuppföljning. Det innebär att vi behöver mått som är enkla att följa upp och som helst kräver så liten arbetsinsats som möjligt.

Det som känns mest naturligt att ha med som kvalitetsindikator är svarstider (tournaround times, TAT). Helst skulle man vilja ha ett mått på "brain to brain" tid dvs från att doktorn bestämde sig för analysen till dess att resultatet nått fram till hans/hennes hjärna igen. Problemet är att analysvalet kan ha fattats långt före provtagningen tex vid ett tidigare besök vilket leder till väldigt långa tider som inte är riktigt relevanta. Praktiskt är det mycket svårt att mäta "brain to brain" tider och det är många steg som ligger utanför laboratoriets kontroll. Om doktorn som skulle ha svaret gick på semester dagen innan vi skickade svaret så kan det mycket väl ligga en månad i patientjournalen innan någon tittar på svaret. Det gör att mått som innehåller tid från skickat till öppnat svar också är mindre användbara mått för laboratoriekvaliteten. Kompromissen blir därför att vi tittar på tiden från att provet ankomstregistreras på laboratoriet till dess att svaret skickats iväg. För att enstaka prover inte ska påverka bedömningen så bör man följa upp ett värde som ligger en bit under 100% och i Uppsala använder vi 90%-percentilen för akuta prover och 80%-percentilen för övriga prover. Det är rimligt att följa upp TAT för analyser som represente-

I Uppsala mäts TAT på följande analyser och processer:

Analys	Process	Mål
P-Troponin I	Biokemi1	80% 45min
P-Kreatinin	Biokemi1 och Enköping	90% 60 min
B-Hb	Hematologi och Enköping	90% 60 min
P-APTT	Koagulation och Enköping	90% 60 min (akut) 90% 70 min (alla)
S-TSH	Biokemi2 (instrument)	80% 120 min
F-Calprotectin	Biokemi2 (manuell extraktion)	80% 3 dygn
B-HbA1c	Kromatografi	80% 350 min
Proteinprofil (albumin)	Biokemi1	80% 1 dygn
Proteinprofil	medicinsk bedömning	80% 4 dygn
Laktosintolerans genotyp	CoM-lab	80% 10 dygn
RCL, solida tumörer	CoM-lab	70% 14 dygn
Lymf-CD3CD4CD8	CoM-lab	80% 3 dygn

rar de olika delarna av laboratoriets verksamhet och inte bara följa upp akutverksamheten.

En svaghet med detta upplägg är att vi i huvudsak monitorerar TAT under dagtid då provvolymerna är störst. Antalet prover mellan 00.00 och 04.00 är så få att de i princip ej kommer påverka 90%-percentil mål. Även om det är få prover totalt så kan det vara viktigt för sjukhuset att ha rimliga svarstider även nattetid. Vill man följa upp TAT under nätter så får man ta ut tidsrelaterade utdrag ur laboratorieinformationssystemet.

TAT kan användas även för att utvärdera större verksamhetsförändringar tex instrumentbyten. I det fallet bör man göra mätningar före och efter förändringen, eventuellt vid flera tillfällen.

TAT kan även användas för långtidsuppföljning av verksamheten. I det fallet räcker det med en mätning per år vid samma definierade tidpunkt. De analyser som vi valt skall representera olika delar av laboratoriets verksamhet, samt analyser inom sortimentet för akuta prover resp. analyser som huvudsakligen utförs på kontorstid.

Generellt uppfattar vi att de Nordiska laboratorierna har korta svarstider och prioriterar detta. I många andra länder förefaller det som att svarstiderna har en betydligt lägre prioritet utan man prioriterar istället laboratoriets ekonomi före den totala sjukvårdsekonomin. Det syn tex på att man i flera länder i första hand använder serum som ju måste koagulera i minst 30 min (vilket i praktiken oftast blir betydligt längre) vilket ökar svarstiderna. Andra tecken är att man lägger laboratorierna en bit från sjukhuset eller bygger stora laboratorieenheter som servar stora upptagsområden vilket leder till långa provtransporter. Exempel på detta är tex USA och Japan. Jag har sett bilder från japanska laboratorier som hade enorma mikroskoperingsalar och ett enda japanskt laboratorium producerade analysresultat motsvarande den totala svenska laboratorieproduktionen. Med sådana volymer måste man samla in prover från stora upptagsområden vilket är svårt att förena med korta svarstider för akuta prover.

Svarstider är ett kvalitetsmått, men det är många andra delar av laborieverksamheten som vi också vill skall fungera bra.

Ett annat mått som givetvis är intressant att följa är andelen felaktiga analysresultat. Problemet är att få fram representativa siffror för denna kvalitetsindikator. Det beror på att det sannolikt bara är en liten andel av avvikelserna som kommer till vår kännedom. Vi kan i sig använda oss av avvikelserapporter men

antalet rapporter varierar över tid vilket gör uppföljningen svår.

Nedan är ett antal exempel på andra kvalitetsindikatorer som man också kan överväga att använda sig av:

- 90% av patienterna skall vänta max 40 minuter vid provtagning
- nyckeltal inom patientnära analysverksamheten (PNA) följs som antalet uppkopplade instrument
- hemolysprover (HIL-index) – andel hemolysprover på kalium ska minska årligen
- >75% av avvikelser vid internrevision skall vara åtgärdade inom 2 månader
- totala sjukfrånvaron <5%
- personalomsättning <5%
- antal utbildningsmöten per medarbetare under året
- andel av personalen med en viss utbildning som tex andel legitimerade BMA och specialistläkare, andel med behörighet för en analys
- minska andelen pappersremisser respektive papperssvar med 10%
- antalet inkomna förbättringsförslag (kaizen) ≥ 12 st/år
- minskad andel serumrör för analyser som går dygnet runt

Andra mått skulle kunna vara tillgång till relevant litteratur för intern fortbildning. Förr fanns det med i ackrediteringen och mättes ibland som antal löpmetrar böcker i klinikens bibliotek. Med dagens digitala övergång så har måttet löpmetrar böcker tappat sin betydelse. Det är ju också så att förekomst av böcker inte automatiskt innebär att man läser dem.

Nyckeltalet ovan för andel uppkopplade PNA instrument är en del i strävan att minska antal manuella resultatregistreringar eftersom det är betydligt vanligare med registreringsfel när man skriver in resultat manuellt än när de överförs direkt från analysinstrumentet. Samma tanke ligger bakom arbetet att minska antalet manuella remisser.

När man följer upp resultaten så måste man också betänka vad som hänt under observationstiden. Så här i tider av Corona epidemi så har sjukfrånvaron ökat och antalet utbildningsmöten har minskat pga reserestriktioner.

Generellt kan man säga att det är värdefullt att ha någon form av uppföljning av vår verksamhet i form av kvalitetsindikatorer. Vilka man väljer måste dock anpassas till det lokala laboratoriet så detta är bara ett exempel.

Ph.d. avhandling: Estimation and measurement of glomerular filtration rate in children

Cathrin Lytomt Salvador

Avd for medisinsk biokjemi, Oslo universitetssykehus Rikshospitalet, Norge

catsal@ous-hf.no

Veiledere: Lars Mørkrid, Stein Bergan og Camilla Tøndel

Cathrin Lytomt Salvador forsvarte sin ph.d. ved Universitetet i Oslo 7.mai 2020 med tittelen ”*Estimation and measurement of glomerular filtration rate in children*”



Bakgrunn

Glomerulær filtrasjonsrate (GFR) samsvarer godt med nyrenes totale funksjonsevne og brukes i diagnostikk og oppfølging av nyresykdom samt i oppfølging av pasienter som får nefrotoksiske medikamenter. Det finnes en rekke formler for å estimere GFR (eGFR) basert på konsentrasjonen av plasmamarkører eller kombinasjon av markører fra plasma og urin. De hyppigst anvendte eGFR-formler er basert på de endogene markørene kreatinin og/eller cystatin C. Plasmaeliminasjon av iohexol, et

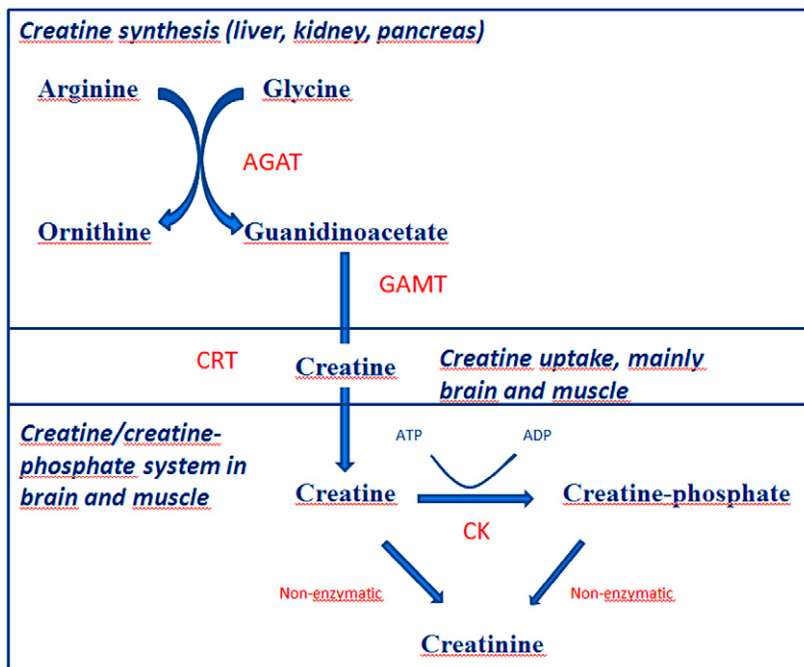
ikke-ionisk røntgenkontrastmiddel, er svært mye brukt når målt GFR (mGFR) er ønsket, og er et mer nøyaktig mål på GFR enn eGFR. Det er ulike rutiner på sykehusene når det gjelder antall venøse prøver og tidspunkt for prøvetakning etter injeksjon av iohexol. Nedsatt nyrefunksjon kan også påvirke flere andre ikke-nyrerelaterte diagnostiske markører som brukes i diagnostikk av ulike sykdommer, bl.a. innen kreftmedisin og innen screening for medfødte metabolske sykdommer. I min avhandling ”*Estimation and measurement of glomerular filtration rate in children*” har vi undersøkt hvordan man optimalt kan få et godt mål på GFR hos barn. I delarbeid I var målet å evaluere ulike eGFR-formler basert på biomarkører i blod, i delarbeid II var ønsket å finne det optimale tidspunkt for blodprøvetaking og optimal formel dersom bare ett prøvetidspunkt skulle brukes (1-punkts GFR), i delarbeid III ønsket vi å undersøke om kapillært blod på filterkort kan brukes i stedet for venøse prøver for å måle iohexolclearance, og i delarbeid IV var målet å finne ut hvordan nyrefunksjonen påvirket ulike diagnostiske markører og beslutningsgrensene for disse markørene.



Figur 1. Blodprøve på filterkort

Materiale og metode

I studien ble 96 barn fra Oslo universitetssykehus og Haukeland universitetssykehus i alderen 0.3-17.5 år (median alder 9.2 år) med kronisk nyresykdom (CKD stadium 1-5) undersøkt med en gullstandardmåling av GFR ved hjelp av injeksjon av en liten dose av røntgenkontrastmiddelet iohexol, med syv påfølgende blodprøver (10-300 minutter) i kontralateral arm. Iohexolkonsentrasjoner ble målt med high performance liquid chromatography (HPLC). Median 7-punkt mGFR (GFR_{7p}) var 66 mL/min/1.73m² (range 6-153). Ti ulike eGFR-formler (3 cystatin C-baserte, 4 kreatininbaserte, 3 kombinasjonsformler av cystatin C og kreatinin) (artikkel I) og 6 ulike



Figur 2. Kreatinsyntese, modifisert fra Dunbar et al.*

AGAT= arginine:glycine amidinotransferase, GAMT= guanidinoacetate methyltransferase, CRT= creatine transporter, CK=creatine kinase

*Dunbar M, Jaggamantri S, Sargent M, et al. Treatment of X-linked creatine transporter (SLC6A8) deficiency: systematic review of the literature and three new cases. *Mol Genet Metab.* 2014;112(4):259-74.

1-punkts mGFR formler (artikkel II) ble evaluert. I en subgruppe bestående av 32 pasienter under 6 år (range 0.3-6.2 år) ble det i tillegg tatt kapillære blodprøver på filterpapir ved fire ulike tidspunkter (artikkel III) (Figur 1). Guanidinoacetat (GAA) og kreatin (CRE), som er diagnostiske markører for kreatinmangelssyndromer (Figur 2), human epididymis protein 4 (HE4), som er tumormarkør for ovarialcancer, samt neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), markør for akutt nyreskade, ble analysert i både serum og urin (artikkel IV).

Resultater og diskusjon

Det første delarbeidet omhandlet hvordan en basert på måling av endogene stoffer i blodet best kan estimere GFR (eGFR) ved hjelp av matematiske formler. Formler som inkluderer biomarkøren cystatin C ga bedre resultater enn de som er basert på bare kreatinin. Schwartz_{cysC} eGFR formula hadde minste bias på -1.49 mL/min/1.73m². Både Schwartz_{cysC} og den kombinerte Schwartz_{CKiD} formelen som inkluderer cystatin C, kreatinin, urea og kroppsmål, hadde 90% av verdiene innenfor ±30% av GFR_{7p} (P30) og henholdsvis 44 and 48%, innenfor ±10% av GFR_{7p} (P10). Fordelen med Schwartz_{cysC} formel er dens uavhengighet av høydebestemmelse, noe som gjør den egnet for

rapportering direkte fra laboratoriesystemet. Blant de kreatininbaserte formlene viste revidert Lund-Malmö formel best resultater med P30 på 72% og P10 på 27%. Schwartz_{bedside} formel, som hyppig anvendes på barneavdelinger i Norge, viste dessverre lav nøyaktighet med P30 på 53%, P10 på 13% og median bias 15.5 mL/min/1.73m² i vår kohort av nyresyke barn. Alle formlene hadde P30 <90% i gruppen med GFR < 60 mL/min/1.73m², så mGFR er den foretrukne metoden for bestemmelse av GFR hvis mulig. I hverdagsrutinen trenger man imidlertid enkelt å kunne estimere GFR uten å utføre injeksjon av eksternt markør som bl.a. iohexol, og cystatin C-basert eGFR vil da gi mest korrekt resultat.

I det andre delarbeidet ble ulike forenklete mGFR-metoder basert på bare ett blodprøvetidspunkt etter iohexolinjeksjon undersøkt. Her ga blodprøve tatt 3 timer etter injeksjon tilfredsstillende resultater hos de fleste barna dersom en brukte Flemings formel, i motsetning til andre ettpunktsformler, med P10 på 92% ved GFR ≥ 30 mL/min/1.73m², ikke signifikant forskjellig fra 2-punkts mGFR (p=0.29), med prøvetidspunkt 2 og 5 timer etter iohexol injeksjon og med bruk av Jødal & Brøchner- Mortensen formel fra 2009 (med BSA normalisering før korreksjon av distribusjonsfasen). Venøs GFR_{1p} og GFR_{2p} i hele kohorten

viste henholdsvis P10 på 82% og 97%. Hos barn med svært redusert nyrefunksjon, < 30 mL/min/1.73m², viste denne metoden for stor grad av usikkerhet og hos disse anbefales derfor mGFR basert på minimum to blodprøver.

Det tredje delarbeidet i avhandlingen evaluerte en mGFR-metode basert på blodprøver fra fingerstikk dryppet på filterpapir, slik man gjør i dagens Nyfødscreening, noe som krever lite blodvolum og er enkelt å transportere pr post. Selv ved bruk av blodprøvetaking på fire tidspunkt viste denne metoden relativt stor grad av usikkerhet med P10 på 59% og filterpapirmetoden overestimerte venøs GFR med gjennomsnitt 7.2%, når blodprøvene var tatt 2 og 4 timer etter injeksjon av iohexol. I subgruppen med GFR_{7p} < 60 mL/min/1.73m² viste GFR_{2p} på filterpapir en P10 verdi på 77% and P30 på 100%. Vår metode var ikke-volumetrisk; dvs. at blodråpen ble dryppet på filterpapir og en liten prøve ble punchet ut. Diffusjonen av blod på filterpapir vil være avhengig av hematokritverdien. Det finnes flere nye metoder

for mikrosampling, og en volumetrisk metode hadde vært interessant å undersøke videre, hvor et bestemt blodvolum blir analysert og hvor da hematokrit får mindre påvirkning. Sammenlikning av nøyaktighet (accuracy) fra artikkel I, II og III er oppsummert i Tabell 1.

I det fjerde og siste delarbeidet fant vi at flere biomarkører som brukes for diagnostikk av ulike sykdommer ble påvirket av nyrefunksjonen, deriblant markører som brukes til screening av medfødte metabolske sykdommer. Det er følgelig viktig å ta nyrefunksjon med i vurderingen av slike prøvesvar. Det er allerede velkjent at metylmalonsyre og homocystein kan bli påvirket av nyrefunksjonen. Guanidinoacetat (GAA) og kreatin (CRE) er markører i urin og blod som brukes i diagnostikk av pasienter med uavklart psykisk utviklingshemming/forsinket språkutvikling, for eventuelt å kunne diagnostisere kreatinmangelsyndrom. Ved GAMT-defekt sees typisk forhøyet GAA i serum og urin, og ved AGAT-defekt sees lave GAA verdier (Figur 2). Nedsatt nyrefunksjon kan

Tabell 1. Sammenlikning av nøyaktighet (accuracy)^a fra delarbeid I, II og III

	CKD stage 1-5		CKD stage 3-5	
	P10 (%)	P30 (%)	P10 (%)	P30 (%)
2-point blood spot (2-4h) (paper III)	59	97	77	100
2-point plasma (JBM) (2+5h) (1)	96	-	100	-
1-point plasma (Fleming) (3h) (paper II)	82	-	91 (CKD 3) 39 (CKD 4-5)	-
eGFR Schwartz _{cysC} (paper I)	44	90	44	85
eGFR Schwartz _{bedside} (paper I)	13	53	17	39
eGFR LM _{REV} (paper I)	27	72	12	51

^a Accuracy shown in P10 and P30; the percentage of patients within ±10 and 30% of the 7-point reference method, respectively. JBM: Jødal and Brochner-Mortensen formula, LM_{REV} = Lund-Malmö revised
- = not calculated

1. Jodal L, Brochner-Mortensen J. Reassessment of a classical single injection 51Cr-EDTA clearance method for determination of renal function in children and adults. Part I: Analytically correct relationship between total and one-pool clearance. *Scand J Clin Lab Invest.* 2009;69 (3):305-13.

føre til lavere verdier for S-GAA og U-GAA/kreatinin, som kan føre til feiltolkning av prøvesvar ved diagnostisering av kreatinmangelsyndromer. Nivået av GFR påvirket også S-HE4 og U-HE4/S-HE4 ratio med økt HE4 hos pasienter med lav GFR. HE4 er en tumormarkør for ovarialcancer hos voksne, men nyrefunksjonens påvirkning på HE4-nivået belyser viktigheten av å tolke prøvesvarene sammen med informasjon om nyrefunksjon. I tillegg økte S-NGAL-verdier ved fallende nyrefunksjon, mens U-NGAL ikke ble påvirket i samme grad. NGAL brukes ikke pr i dag i rutinen i Norge, men har den fordel at den øker tidligere enn kreatinin ved akutt nyreskade.

Konklusjon

Det optimale for bestemmelse av GFR, når man tar hensyn til analytisk kvalitet, kostnad, praktiske forhold rundt prøvetaking på poliklinikk samt klinisk nytteverdi, er måling med iohexolclearance med to blodprøver, 2 og 5 timer etter injeksjon av iohexol. Rutinen i Norge er nå endret, basert på disse prosjektresultatene, slik at hovedregelen er nå måling av GFR med 2-punkts metode i stedet for tidligere 1-punkts metode. Hvis $GFR > 30 \text{ mL/min/1.73m}^2$, kan 1-punkt måling ved 3 timer med Fleming formel vurderes brukt. For bestemmelse av estimert GFR anbefales bruk av $Schwartz_{cysC}$ eller $Schwartz_{CKiD}$ formel. Det er ønskelig med mer forskning på egnede metoder på barn med svært redusert nyrefunksjon, og likeså når det gjelder iohexolclearance basert på filterpapirblod. Det finnes en rekke kapillære prøvetakingsrutiner inkludert mikrosampling som kan være interessant å vurdere i denne sammenhengen. Flere diagnos-

tiske markører kan bli påvirket av nyrefunksjonen, og nyrefunksjonen bør derfor vurderes i tolkning av ulike ikke-renale markører. Vi arbeider nå videre med å vurdere hvordan nyrefunksjonen påvirker andre markører innenfor diagnostikk av medfødte metaboliske sykdommer, samt NGALs nytteverdi.

Referanser

Artikkel I: Estimating Glomerular Filtration Rate in Children: evaluation of creatinine- and cystatin C based equations

Salvador CL, Tøndel C, Rowe AD, et al. *Pediatr Nephrol*, 2019;34:301-311.

Artikkel II: Iohexol plasma clearance in children: validation of multiple formulas and single-point sampling times

Tøndel C, Salvador CL, Hufthammer KO, et al. *Pediatr Nephrol*, 2018;33:683-696.

Artikkel III: Glomerular filtration rate measured by iohexol clearance: A comparison of venous samples and capillary blood spots

Salvador CL, Tøndel C, Mørkrid L, et al. *Scand J Clin Lab Invest*, 2015; 75:710-716

Artikkel IV: Renal Function Influences Diagnostic Markers in Serum and Urine: A Study of Guanidinoacetate, Creatine, Human Epididymis Protein 4, and Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin in Children

Salvador CL, Tøndel C, Rowe AD, et al. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*, 2017; 2:297-308.

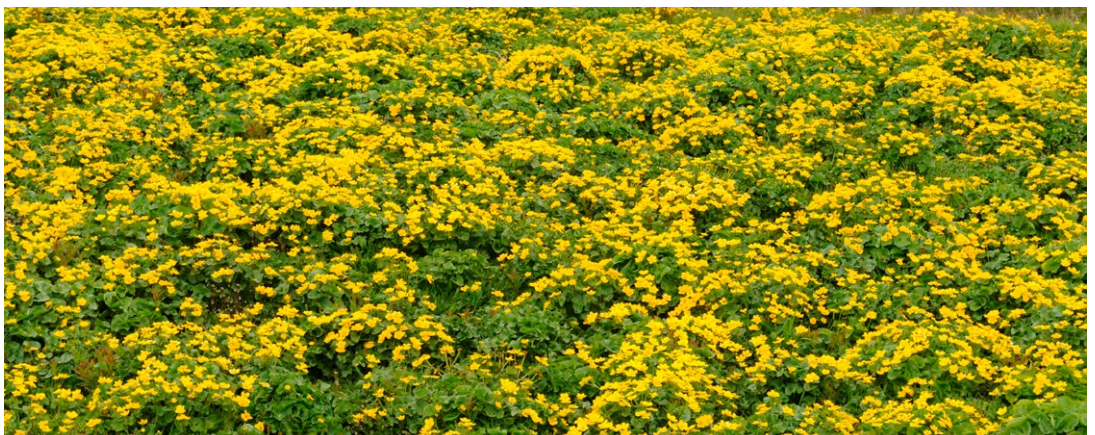


Foto: Henrik Alfthan.

Kreatinin – en rasistisk laboratorieanalys

Anders Larsson

Anders.larsson@akademiska.se



När blir en laboratorieanalys rasistisk? Normalt ser vi nog inte på laboratorieanalyser ur ett rasistiskt perspektiv men frågan har nyligen dykt upp i flera av de stora amerikanska vetenskapliga tidskrifterna som tex New England Journal of

Medicine (1). Jag tror ingen av oss har missat Black Lives Matter rörelsen i USA. BLM och fokuset på rasism har medfört att många amerikanska sjukhus har ändrat sina sätt att beräkna njurfunktionen i form av glomerulär filtrationshastighet (GFR). De amerikanska GFR beräkningarna bygger på MDRD och CKD-EPI ekvationerna. Dessa innehåller en faktor på 16-21% för justering av GFR för afroamerikaner. Underlaget är att mätt GFR med exogen markör (liknande iohexol) var ca 16% högre hos svarta amerikaner än vita amerikaner med samma kreatininvärde. Det ansågs att det berodde på effekter som inte var relaterade till GFR. Det finns en hel rad

möjliga förklaringar. En del är historiska som tex att de områden som de amerikanska slavarerna kom ifrån hade genetiskt större muskelmassa eller annan tubulär sekretion av kreatinin, att slavjägarna valde stora starka individer med kraftig muskulatur eller att de svaga individerna dog under transporten över havet. Andra är mer nutida som att en större andel av svarta amerikaner har kroppsarbete än vita amerikaner eller att kosten skiljer sig åt. Många möjliga faktorer men ingen som är säkert fastställd. Ur skandinaviskt perspektiv så verkar det vara så att personer som kommer direkt från Afrika inte har den här rasfaktorn för kreatinin. Det skulle tala för att rasfaktorn enbart gäller afroamerikaner och att rasskillnaden är något som inträffat efter slavfartygen lämnade Afrikas kust. Att det inte finns en rasfaktor för personer som bor i Afrika är baserat på relativt små material, men det finns i varje fall inget som talar för att de skandinaviska laboratorier skulle använda en rasfaktor för invandrare som kommer från Afrika.



Tillbaka till den amerikanska situationen där flera av sjukhusen tagit bort rasfaktorn. När man tar bort rasfaktorn så sänker man GFR värdena för afroamerikaner. Det innebär att fler afroamerikaner klassas som njursjuka (GFR<60) och färre får donera sina njurar. Fler personer kommer att få reducerad läkemedelsdos på grund av nedsatt njurfunktion och fler kommer att sättas upp på njurtransplantationslistor. Att ta bort rasfaktorn innebär förändringar för vissa patienter men blir kreatinin mindre rasistiskt utan faktor. Det är väl snarast så att den blir rasistisk på ett annat sätt.

Ett sätt som man provar i USA är att istället för vit och svart kalla de olika kalibreringarna för hög och låg. Då har man tagit bort begreppet afroamerikaner i svaret, men samtidigt måste man lära svarsmottagarna vad man menar med hög och låg dvs afroamerikaner respektive vit. Man har också föreslagit att ersätta svart med stor muskelmassa och vit med liten muskelmassa. Alla ovanstående alternativ har använts på sjukhus i USA. Inget av dem känns väl riktigt optimalt eller mindre rasistiskt. Ytterligare ett alternativ som diskuteras är att ta bort rasen när man gör beräkningarna och ta ett medelvärde vilket gör att man skattar alla patienter fel, men kanske något mindre för de som avvek mest innan. En annan möjlighet som diskuterats är att ersätta rasfaktorn med längd och vikt. Det fungerar nog bra i studier, men det finns stora problem med att få in längd och vikt på alla patienter. I Sverige analyserar vi ca 10 miljoner kreatinin per år. Varje sekund som vi lägger på att mäta och väga en patient motsvarar 3 heltidstjänster. Det blir en dyr förändring och vi kommer ha en stor del mätningar där det saknas längd och vikt vilket kommer leda till frustration både hos laboratorierna och svarsmottagarna. Ytterligare en variant som diskuteras är att försöka hitta andra "rasneutrala" kombinationer som tex att kombinera kreatinin, cystatin C, beta-traceprotein och beta-2mikroglobulin. Praktiskt kommer det öka kostnaderna för GFR analyserna rejält och vi kommer att ha svårt att ha alla metoderna tillgängliga dygnet runt.

Det kanske är rätt som amerikanerna säger att kreatinin med en faktor för afroamerikaner är rasistiskt, men frågan blir då om inte alternativen också är rasistiska.

I Sverige använder laboratorierna genomgående LM-REV ekvationen som inte har någon rasfaktor. Det beror på att det var för få afroamerikaner i mate-



rialet för att kunna göra en analys av eventuell faktor för afroamerikaner. Antalet afroamerikaner i våra nordiska länder är sannolikt lågt vilket gör att problemet här är betydligt mindre än i USA. Det rimliga är nog att vi fortsätter rapportera kreatininberäknat GFR utan någon faktor och avvaktar till dess att amerikanerna kommer med någon bra lösning på problemet. För de kliniker som ändå känner att kreatinin är rasistiskt så föreslår jag att de tar cystatin C istället. Så vitt vi känner till så är inte cystatin C en rasistisk markör och könsskillnaden är också så liten att man inte heller kan kalla den för en sexistisk analys.

Om vi nu accepterar de amerikanska tankarna om att kreatinin är rasistiskt så kommer man ju osökt över på att vi har olika referensintervall för män och kvinnor och för olika åldrar. Enligt samma resonemang så är väl våra könsindelade referensintervall sexistiska och särskilda referensintervall för barn och äldre åldersdiskriminerande och borde ersättas med könsneutrala och åldersneutrala referensintervall dvs enhetliga referensintervall. Det lär bli en intressant arbetsuppgift för endokrinologgrupperna att ta fram könsneutrala referensintervall för till exempel östrogen och testosteron.

Min förhoppning är att detta fortsätter att vara en amerikansk fråga som vi kan observera på avstånd och att vi inte blir direkt inblandade.

1. Diao JA, Inker LA, Levey AS, Tighiouart H, Powe NR, Manrai AK. In Search of a Better Equation - Performance and Equity in Estimates of Kidney Function. *N Engl J Med.* 2021 Feb 4;384(5):396-399.

Summary of an evaluation organised by SKUP

Elisabet Eriksson Boija, on behalf of Scandinavian evaluation of laboratory equipment for point of care testing (SKUP)
elisabet.eriksson.boija@equalis.se



qLabs ElectroMeter Q-3 Plus Owren (dry)
for measurement of PT (INR)

Background

The qLabs Q-3 Plus PT (INR) Owren (dry) system (figure 1) is an in vitro diagnostic device for quantitative measurement of Prothrombin Time International Normalized Ratio (PT (INR)). The product is intended for professional use. The system is produced by Micropoint Bioscience, Inc. and was launched into the Scandinavian market September 2019.

The sample material is fresh capillary blood. The measuring interval for qLabs Q-3 Plus PT (INR) Owren (dry) is 0,5 – 8,0 INR. The SKUP evaluation was carried out late September 2020 to early February 2021 at the request of Micropoint Bioscience, Inc. in USA.

The aim of the evaluation

The aim of the evaluation was to assess the analytical quality and user-friendliness of qLabs Q-3 Plus PT (INR) Owren (dry), when used under real-life conditions by intended users in primary health care, which documents the quality of the system under real-life conditions.

Materials and methods

In four primary health care centres (PHCCs), fresh capillary blood samples from a total of 186 patients, all stable on vitamin-K-antagonist treatment, were measured on qLabs Q-3 Plus PT (INR) Owren (dry) (modified Owren method). Citrate plasma samples from the same patients were analysed on a comparison method (Equalis calibrated Owren's method with Owren's PT reagent from Medirox AB on Sysmex CS5100, Siemens Healthineers).

The analytical results and user-friendliness were assessed according to pre-set quality goals. The quality goal for precision was a repeatability (coefficient of variation, CV) $\leq 5,0$ % and for accuracy that ≥ 95 % of the results should be within $\pm 20,0$ % of the results



Figure 1. qLabs ElectroMeter Q-3 Plus.

from the comparison method. The user-friendliness was assessed using a questionnaire covering several topics with three given ratings; satisfactory, intermediate and unsatisfactory, and with the quality goal of a total rating of "satisfactory".

Results

At PT (INR) level $< 2,5$ the CV achieved in the different PHCCs varied between 4,1 and 5,7 %, and at PT (INR) level $\geq 2,5$ the CV varied between 3,6 and 5,1 % (table 1). When the results from all PHCCs were merged per level, the CV achieved at PT (INR) level $< 2,5$ was 4,9 % and at PT (INR) level $\geq 2,5$ it was 4,5 %. An average bias of 0,2 INR was shown between qLabs Q-3 Plus PT (INR) Owren (dry) and the comparison method.

For accuracy, 90 % of the results were within the allowable deviation limits (figure 2). Of the 178 results included, seven deviated more than 25 % from the results of the comparison method, which corresponds to 4 %. The user-friendliness was rated as satisfactory for all topics but the instrument itself, which was rated as intermediate.

Conclusion

The quality goal for repeatability was fulfilled. The quality goal for accuracy was not fulfilled. The quality goal for user-friendliness was not fulfilled.

The complete evaluation report (SKUP/2021/123) is available at www.skup.org.

Table 1. Repeatability (CV) of qLabs Q-3 Plus PT (INR) Owren (dry) for PT (INR) measured in capillary blood samples. Results achieved by intended users.

Place	PT (INR) level qLabs Q-3 Plus PT (INR) Owren (dry)	n*	Excluded results (statistical outliers)	Mean value PT (INR)	CV (90% CI), %
PHCC 1	<2,5	17	0	2,2	5,7 (4,4-8,0)
	≥2,5	28	0	3,0	3,6 (2,9-4,6)
PHCC 2	<2,5	13	0	2,3	4,1 (3,1-6,1)
	≥2,5	32	0	3,0	5,0 (4,2-6,3)
PHCC 3	<2,5	15	0	2,3	4,6 (3,5-6,7)
	≥2,5	29	0	2,9	5,1 (4,2-6,5)
PHCC 4	<2,5	11	0	2,2	5,3 (3,9-8,4)
	≥2,5	34	0	3,1	4,0 (3,3-5,0)
PHCC All	<2,5	56	0	2,2	4,9 (4,3-5,9)
	≥2,5	123	0	3,0	4,5 (4,1-5,0)

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

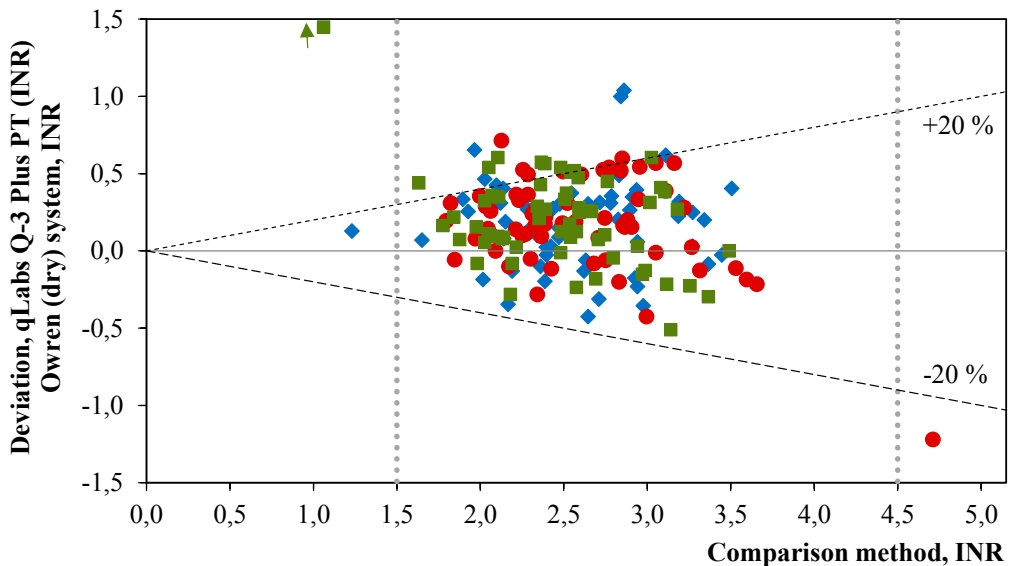


Figure 2. Accuracy of PT (INR) results on qLabs Q-3 Plus PT (INR) Owren (dry) achieved by intended users presented per lot number. The x-axis represents the mean PT (INR) result of the comparison method. The y-axis represents the PT (INR) deviation of the first capillary measurement on qLabs Q-3 Plus PT (INR) Owren (dry) from the mean result of the corresponding sample of the comparison method. The different lot numbers are illustrated with the symbols ◆ (Lot 3050K1203), ● (Lot 3050K1206), and ■ (Lot 3050K1207). Sloped stippled lines represent the allowable deviation limits of $\pm 20,0\%$. The vertical stippled lines at INR 1,5 and 4,5 illustrate the cut off values for calculations. The arrow marks one result outside the plot. Number of results totally (n) = 181. Number of results included in the calculation of accuracy (n) = 178. An account of the number of samples is given in the report.

Til manuskriptforfattere

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

Eksempler

Journal artikkel med inntil tre forfattere:

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

Journal artikkel med mer enn tre forfattere:

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

Abstrakt:

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

Bok kapitler:

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

PhD teser:

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

On-line publisert artikkel som ennå ikke er trykt:

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

Supplement:

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

Internett kilde:

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

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

Nordisk Forening for Klinisk Kemi (NFKK)

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

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

Redaktionen för Klinisk Biokemi i Norden

Hovedredaktør: Helle Borgstrøm Hager · Tryk: Clausen Grafisk



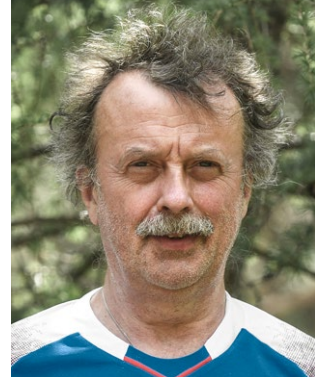
Danmark

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



Island

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



Finland

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



Norge

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



Sverige

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



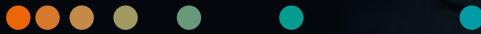
NFKK

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

Addressing the COVID-19 workflow challenge

A comprehensive, multidisciplinary
workflow solution

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



SARS-CoV-2 Total Assay

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

SARS-CoV-2 IgG Assay

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

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

SIEMENS
Healthineers