

DSKB-NYT

Medlemsblad for Dansk Selskab for Klinisk Biokemi



Redaktionsgruppemøde ved Hindsgavl

Nr. 1 Marts
2018

Forskning – nysgerrigheden skal pirres hver eneste dag
– læs mere på s. 4

Indhold:

- » Referenceintervaller for basisk phosphatase efter ændring af referencemetode
- » DSKB Forårsmøde nr.537
- » Forårsmøde i Dansk Thyroidea Selskab
- » Indkaldelse til generalforsamling i DSKB
- » Fastsættelse af krav til analysekvalitet
- » Ioniseret calcium – et problembar
- » DSKB-udvalg for etablering af graviditets-specifikke referenceintervaller
- » Undersøgelse for IGHV mutationsstatus ved kronisk lymfatisk leukæmi (CLL) og stereotypi af B-celle receptoren
- » Ny udgave af retningslinjen for M-Komponent-analyser

ISSN 1902-1526



The
Gamechanger

Experience the power of the Atellica Solution

Flexible, scalable, automation-ready immunoassay and chemistry analyzers engineered to deliver control and simplicity so you can drive better outcomes.

Let's shape the future of healthcare together.

Kolofon

DSKB-Nyt nr. 1/2018

Udgiver:

Dansk Selskab for Klinisk Biokemi

Ansvarshavende redaktør:

Eva Rabing Brix Petersen

Layout og redaktionel tilrettelæggelse:

tuen

Bladet udgives 4 gange årligt

Indlæg til DSKB-Nyt

Se bagerst i bladet

Denne og tidligere udgaver kan downloades fra www.dskb.dk



DSKB Bestyrelse

Lise Bathum

e-mail: lise.bathum@regionh.dk

Morten Dahl

e-mail: modah@regionsjaelland.dk

Mie Hessellund Samson

e-mail: miesamso@rm.dk

Martin Overgaard

e-mail: martin.overgaard@rsyd.dk

Tina Parkner

e-mail: tina.parkner@auh.rm.dk

Vakur Bor

e-mail: vakur.bor@rsyd.dk

Malene Bjerregaard Pass

e-mail: mbpa@regionsjaelland.dk

Nyt fra Bestyrelsen



Eva Rabing Brix Petersen
Læge, Afdeling for
Klinisk Biokemi og
Farmakologi, Odense
Universitetshospital

Velkommen til årets første nummer af DSKB-Nyt. Blandt mange spændende indlæg finder man bl.a. en kort og præcis opsummering af den nye retningslinje for M-Komponent-analyser, hvori det anbefales, at frie lette kæder indgår i førstegangsprøver sammen med plasma M-komponent ved mistanke om myelomatose. Den nye udgave af retningslinjen for M-komponent-analyser er blevet til i en fælles arbejdsgruppe under DSKB og Dansk Myelomatose Studie Gruppe (DMSG).

I dette blad kan også læses om ændring af sporbarhed for metoden for basisk phosphatase. Det videnskabelige udvalg for Kvalitet (VUK) har gennemgået sagen, da ændringen har betydet et lille skift i niveau. Men VUK har lavet en dansk anbefaling, hvor referenceintervallet ikke skal ændres. Sverige har foreløbigt valgt at ændre referenceintervallet, mens de øvrige nordiske lande følger samme linje, som VUK anbefaler.

I Vejle er der udarbejdet et dokument om "Fastsættelse af krav til analysekvalitet", der er tænkt som et inspirationsværktøj til at gøre denne øvelse mere håndgribelig. Forfatterne indbyder til, at man indsender sine kommentarer til dokumentet. Herefter vil den reviderede vejledning blive lagt på DSKBs hjemmeside. Selvom det beskrevne nok er kendt viden for de fleste - om ikke alle - laboratorier, kan vejledningen være en god støtte for særligt de yngre i specialet, der måske står med problemstillingen for første gang eller blot ønsker ét samlet (nationalt) dokument om fremgangsmåden for fastsættelse af krav til analysekvalitet.

I dette nummer vil man kunne læse om den meget spændende forskning indenfor særligt reproduktionsimmunologi, der udgår fra Sjællands Universitets Hospital i Roskilde fra professor Thomas Hviids forskningsgruppe.

Der er indkaldelse til Generalforsamling i DSKB, som finder sted umiddelbart i forlængelse af Forårsmødet d. 24. maj 2018 i Fredericia. Forårsmødets formiddagssession kommer i år til at sætte fokus på analysemetoder: Immunkemi versus LC-MS – analytiske og kliniske perspektiver, mens eftermiddagssessionen kommer til at stå i neurologiens tegn. Se program og indkaldelse til Generalforsamling inden i bladet.

Bestyrelsen vil gerne opfordre til, at man kontakter Formanden, såfremt man ønsker at indgå i Bestyrelsesarbejdet. Bestyrelsen vil søge at indstille kandidater til generalforsamlingen, der er spredt geografisk og med forskellig "anciennitet" indenfor specialet. Det vil være en hjælp med en interesse-tilkendegivelse fra interesserede DSKB-medlemmer.

Tak for de mange høringssvar vedr. EFLM Recommendation for venous blood sampling. Der var en høj grad af konsensus i kommentarerne. Mads Nybo, Lise Bathum og undertegnede udarbejdede efterfølgende et samlet høringssvar fra Danmark, der kan læses på DSKBs hjemmeside.

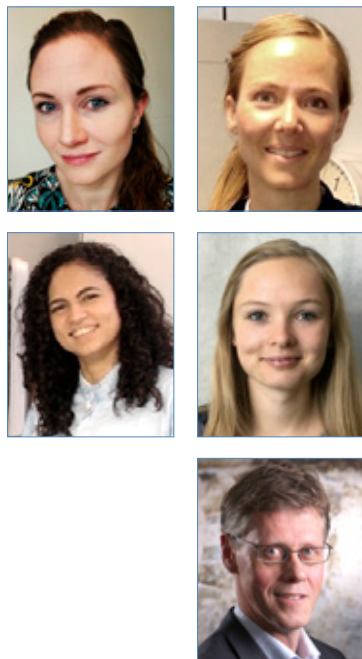
DSKB-Nyt Redaktionsgruppen takker Aase Handberg for mange års engageret arbejde for bladet - det har været en stor fornøjelse! Stine Linding Andersen, hoveduddannelseslæge i Aalborg, er trådt ind i Redaktionsgruppen - velkommen til.

Til slut skal nævnes, at der er mulighed for at ansøge DSKB om at få dækket udgifter til aktiv kongresdeltagelse, såfremt man har fået afslag på finansiering fra egen afdeling. Dog vil bestyrelsen maksimalt anvende 50.000 kr. til dette årligt. Se flere oplysninger herom på DSKBs hjemmeside.

God læselyst!

Nysgerrigheden skal pirres hver eneste dag

– forskning på KBA Sjællands Universitetshospital



Gry Persson, postdoc,
cand.scient., ph.d.,
Line Nilsson,
cand.scient., ph.d.-studerende,
Wenna Nascimento Melsted,
MSc, ph.d.-studerende,
Nanna Jørgensen,
cand.scient., ph.d.-studerende,
Thomas Hviid,
klinisk forskningsprofessor,
overlæge, ph.d., dr.med.
Klinisk Biokemisk Afdeling
Sjællands Universitetshospital,
Roskilde

Forskning, nysgerrighed, kreativitet og tværfagligt samarbejde er i højsædet på Klinisk Biokemisk Afdeling på Sjællands Universitetshospital (SUH) i Roskilde (Fig. 1). Forskningsaktiviteterne er organiseret i Center for Immunregulering og Reproduktionsimmunologi (CIRRI). Hovedforskningsområderne er generelle mekanismer, der modulerer immunsystemets funktion, specielt inden for forskningsområderne reproduktionsimmunologi og cancerimmunologi. Forbedring af diagnostik og udvikling af biomarkører er naturligvis vigtigt i klinisk biokemisk forskning, men vi mener også, at det parallelt er vigtigt at opnå en dybere indsigt i sygdomsmekanismer og basale biologiske mekanismer. Vi forsøger derfor at gennemføre flere forskellige typer af forskningsprojekter, både primært deskriptive og hypotesegenererende studier, f.eks. genetisk-epidemiologiske studier, kohortestudier og genekspressions-studier, men også forsøg, der undersøger meget specifikke molekylærbiologiske og cellulære mekanismer ud fra nogle klare a priori hypoteser. Vores fokus er patofysiologiske mekanismer, men flere af vores studier involverer tillige en yderligere afdækning af basalfysiologiske mekanismer. Vi benytter en længere række af forskellige metoder og funktionelle assays i vores forskningsprojekter, herunder molekylærbiologiske (Next Generation Sequencing, digital-PCR etc), cellebiologiske (cellelinier, RNA-interferens, flowcytometri etc), biokemiske og immunhistokemiske metoder. Vi benytter ikke dyremodeller, men det kan snart blive aktuelt.

Forskningsgruppen indbefatter aktuelt postdoc Gry Persson, ph.d.-studerende Line Nilsson, og den internationale ph.d.-studerende Wenna Nascimento Melsted fra Brasilien, samt klinisk forskningsprofessor og overlæge Thomas Hviid. Biokemiker Nanna Jørgensen er lige kommet til, og er ved at



Figur 1: Collage over nogle af forskningsaktiviteterne på Klinisk Biokemisk Afdeling på Sjællands Universitetshospital. Rummet, hvor der også er højt til loftet, med den dekorative helix nederst til højre er fra San Raffaele Telethon Institute for Gene Therapy i Milano, Italien, som er en blandt flere samarbejdspartnere.

blive indskrevet som ph.d.-studerende ved Københavns Universitet. Derudover har vi løbende tilknyttet en række studerende fra medicin og naturvidenskab, der skriver kandidatspeciale eller bacheloropgave, og som typisk oppebærer et skolarstipendiat. Endvidere bidrager kemikere og bioanalytikere i afdelingen væsentligt til forskningsprojekterne, herunder særligt kemiker Sara Matzen på flowcytometri-området og molekylærbiolog Tina Funck på det genetiske område.

I det følgende vil vi gerne beskrive vores forskningsprofil og nogle af vores aktuelle forskningsprojekter.



Hvordan sikrer du patienten det optimale prøveresultat?

*- og hvordan sikrer du kvaliteten i hele processen
fra prøvemodtagelse til resultat?*

Vil du vide mere om, hvordan du på en **smart** måde sikrer korrekte resultater til patienterne og sparer tid, reagenser og ressourcer?

Kontakt os på nedenstående telefonnummer.
Og book et møde.



Roche Diagnostics A/S
Industriholmen 59, 2650 Hvidovre
Tlf. 36 39 98 98, www.roche.dk

cobas[®]
Life needs answers

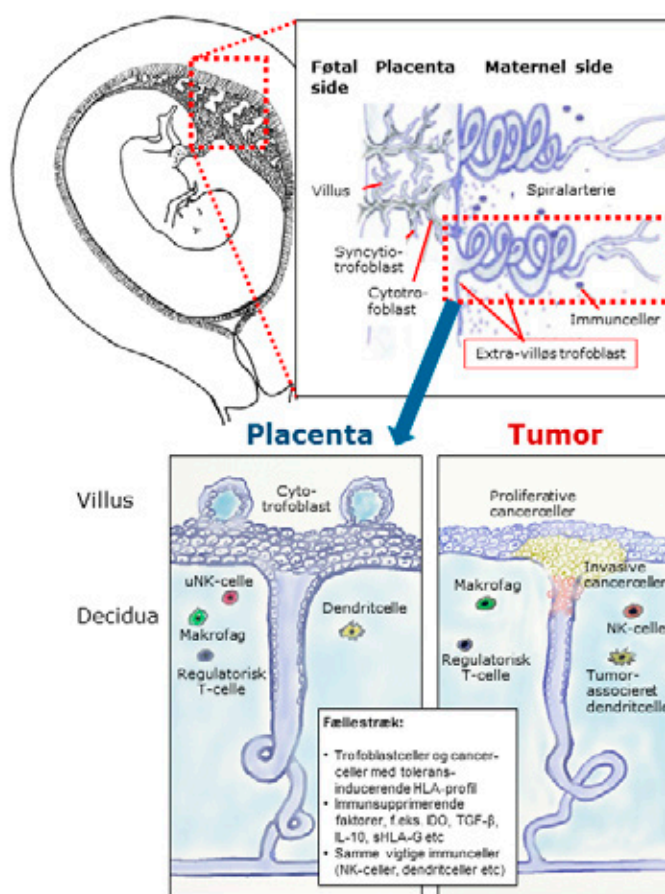
Reproduktionsmedicin og reproduktionsimmunologi

Vores grundlæggende interesseområde er både klinisk relaterede og mere basalvidenskabelige undersøgelser af regulerende mekanismer i immunforsvaret. Disse studier kan have en betydning for en bedre forståelse af mange forskellige immunrelaterede sygdomme. Vi har i en længere årrække beskæftiget os med et område af reproduktionsmedicinen, der internationalt betegnes som reproduktionsimmunologi, og som omhandler immunsystemets betydning for hele reproduktionscyklus lige fra konception til fødsel. Reproduktionsimmunologien omfatter således immunsystemets modulering og funktion under graviditet, samt ved visse graviditetskomplikationer som præeklamps (svangerskabsforgiftning), nedsat fertilitet, gentagne spontane aborter (abortus habitus) og assisteret reproduktion. Normalt vil kroppens immunforsvar forsøge at bekæmpe alt, der registreres som fremmed. Fosterets væv betragtes umiddelbart som noget fremmed af kvindens immunsystem, fordi proteiner, specielt Humant Leukocyt-Antigen (HLA)-vævstyper, udtrykt fra færens gener er forskellige fra morens proteiner. Alligevel er fosteret i stand til at vokse og udvikle sig. Et grundlæggende forskningstema er at opnå en større indsigt i de molekylære og cellulære mekanismer, der modulerer kvindens immunsystem ved kontakten med det delvist vævsfremmede foster under en graviditet (Fig. 2A). En dysfunktion af disse mekanismer kan have betydning for udvikling af præeklamps, visse tilfælde af gentagne spontane aborter og succes ved assisteret reproduktion.

Vi har et særligt fokus på de såkaldte HLA klasse Ib (HLA-E, -F og -G) gener og proteiner og deres betydning for infertilitet

Figur 2A: Der eksisterer flere lighedstræk mellem vigtige immunmodulerende mekanismer af betydning både for reproduktionsimmunologi og cancerimmunologi. Den skematiske figur viser kontaktzonen mellem den gravides væv og fosteret, herunder specielt placenta med de invasive føtale trofoblastceller. (B) Såkaldte immune checkpoint-molekyler er mål for en ny type af cancerimmunoterapi-behandlinger. Specielt er der fokus på inhibitorer af PD1 og CTLA4. HLA-G kandidater til at være et immun-checkpoint-molekyle.

(B7 = B7-proteiner; CD28 = vigtigt for co-stimulerings signaler; CTLA4 = Cytotoxic T-lymphocyte-Associated Antigen 4; HLA = Humant Leukocyt-Antigen; IDO = Indolamin-2,3-Dioxygenase, et immunregulerende enzym; IL-10 = Interleukin-10; ILT-2 = Immunoglobulin-Like Transcript; LAG-3 = Lymphocyte-Activation Gene 3; PD1 = Programmed Cell Death Protein 1; PDL1 = Programmed Death-Ligand 1; sHLA-G = solubelt HLA-G; TCR = T-celle-receptor; TGF- β = Transforming Growth Factor- β ; uNK-celler = uterine Natural Killer-celler).



og visse graviditetskomplikationer, som beskrevet ovenfor. Studier viser, at HLA klasse Ib-molekylerne er med til at sikre

udvikling af immuntolerans i forhold til det delvist vævsfremmede foster. Vi har klarlagt en række basale sammenhænge mellem

HLA G-genpolymorfier, -isoformer og -ekspressionsniveauer, herunder i placenta på foster-derivede trofoblastceller, der er i tæt kontakt med morens immunceller [1, 2]. Et nyt studie af Fu et al. har meget klart vist, at kommunikationen mellem HLA-G og immunoglobulin-like transcript (ILT)-receptorer på den gravides Natural Killer (NK)-celler i livmoderen er meget vigtig for secerering af vækstfremmende faktorer, bl.a. pleiotrophin og osteoglycin, fra NK-cellerne, der således stimulerer fosterets udvikling og vækst [3]. Vi har sammen med andre vist, at koncentrationen af solubelt HLA-G i den gravides blod er signifikant lavere hos gravide, der udvikler præeklamsi end ved ukomplicerede graviditeter, og vores arbejdshypotese er, at dette kan være medvirkende til en immunologisk dysfunktion hos gravide med præeklamsi. I et samarbejde med Gynækologisk/Obstetrisk Afdeling på henholdsvis Sjællands Universitetshospital og Herlev Hospital og internationale forskningsgrupper i Marseille i Frankrig og i Milano, Italien, har vi påbegyndt et udvidet studie af både det innate og adaptive immunrespons ved graviditeter med præeklamsi og ukomplicerede graviditetsforløb. Derudover har vi i et nyligt studie udført i samarbejde med Gynækologisk/Obstetrisk Afdeling og Patologiafdelingen på SUH fundet, at niveauet af en bestemt type af NK-celler og udtrykket af HLA-G i endometriet i livmoderen på tidspunktet for implantation af det tidlige embryo kan være mulige prædiktorer for fertilitet og opnåelse af graviditet ved efterfølgende in vitro-fertilitetsbehandling [4].

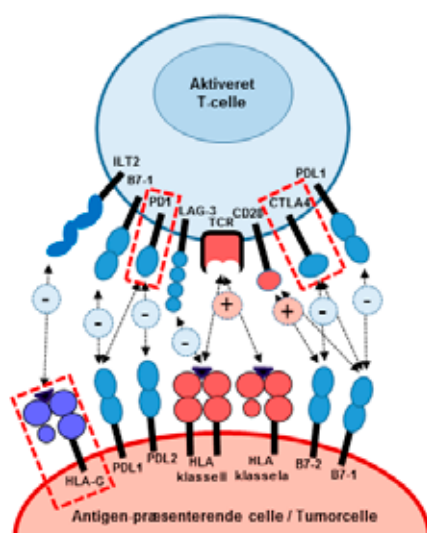
Cancerimmunologi og checkpoint-molekyler

Selvom cancerceller ikke umiddelbart indeholder gener fra et fremmed individ,

som det er tilfældet hos et foster, så er der dog muterede gener, og cancercellerne kan udtrykke proteiner og molekyler, der gør, at immunsystemet registrerer tumorcellerne som syge eller fremmede. Ligesom fosteret er en tumor også i stand til at vokse og udvikle sig.

Forklaringen på, hvorfor både foster og i mange tilfælde tumorer kan fortsætte med at vokse, selvom de registreres som noget fremmed, må blandt andet findes i interaktionen mellem henholdsvis foster eller tumor og immunsystemet. Under graviditeten skabes der en tilstand af immuntolerans, en form for borgfred mellem fosterets væv og kvindens immunforsvar, der forhindrer, at et immunrespons rejses mod fosteret. Som skitseret ovenfor tyder foreløbig forskning på, at dette også er vigtigt for, hvor nemt en kvinde bliver gravid. Ved at undersøge ligheder ved og forskelle på, hvorledes immunforsvaret moduleres under graviditet og cancer, håber vi også at kunne bidrage til en bedre forståelse af, hvordan visse typer af cancer udvikler sig. Der forekommer normalt immunceller i mikromiljøet omkring en kræfttumor, og de besidder anti-tumorraktivitet. Denne aktivitet nedreguleres ofte af signaler fra tumoren, hvilket kan føre til en væsentlig dårligere prognose for patienten. Vi forsøger således at klarlægge specifikke mekanismer, der medfører, at canceren undviger kroppens immunrespons (tumor escape). I en række forskningsprojekter undersøger vi bl.a. betydningen af immunmarkørprofiler for immunreguleringen og immunsystemets respons mod kræftcellerne lokalt i og omkring tumoren. Resultater fra disse undersøgelser kan ultimativt få betydning for forbedring af cancerimmunoterapibehandling. Det tolerans-udviklende HLA-G-protein har normalt et meget restriktivt ekspres-

ionsmønster, men hos nogle cancerpatienter ses et højt udtryk af HLA-G i deres cancerceller. I et studie af patienter med malignt melanom, modermærkekræft, fandt vi bl.a., at patienter med en tumor med høj HLA-G-ekspression var et tegn på en dårlig prognose, og var associeret med en mere aggressiv udvikling af canceren [5]. I et nyligt in vitro-studie med co-cellekulturer af blod mononukleære celler og choriocarcinom-cellelinien JEG-3, der er en cancercellelinie deriveret fra trofoblastceller i moderkagen, har vi endvidere vist, at en nedregulering af HLA-G på JEG 3-cellerne resulterer i et signifikant øget niveau af pro-inflammatoriske cytokiner som Interferon- γ og Tumor Necrosis Factor- β [6]. Ovenstående studier bekræfter den immundæmpende effekt af HLA-G, hvorimod nedregulering af HLA-G kan føre til immunaktivering. En sådan drejning af immunresponsen kan have en negativ effekt i forbindelse med accept af fosteret under en graviditet, men kan have en potentiel positiv effekt i mobiliseringen af et immunrespons mod tumorceller. Der er i øjeblikket stor opmærksomhed på nye behandlingsmuligheder inden for cancer-immunoterapi, herunder såkaldt checkpoint inhibitor terapi. Immune checkpoints er molekyler, der regulerer immunsystemet, og kan være medvirkende til, at en tumor undgår immun-eliminering. Særligt fokus har der været på inhibitorer af proteinet Programmed Cell Death Protein 1 (PD-1) i form af lægemidlerne nivolumab og pembrolizumab. PD-1 er en receptor på T celler, og ved binding af PD L1-ligander forhindres aktiveringen af T-cellen. HLA-G har en lignende immunmodulerende effekt, og der advokeres aktuelt for, at HLA-G/ILT-interaktionen er et immun-checkpoint med deraf følgende muligheder for intervention [7] (Fig. 2B).



Samarbejde og netværk – og dendritceller i Milano

Tværfagligt samarbejde mellem flere forskningsgrupper og afdelinger er essentielt i forbindelse med biomedicinsk forskning. Vi har i flere år haft et godt forsknings-samarbejde lokalt på Sjællands Universitetshospital med en række andre afdelinger, heriblandt Gynækologisk/Obstetrisk Afdeling, Patologiafdelingen, Plastik- og Brystkirurgisk Afdeling, Øjenafdelingen, Onkologisk Afdeling og Kirurgisk Afdeling. Samarbejdet vil blive yderligere udbygget de kommende år. Derudover har vi gode samarbejder med forskningsgrupper på blandt andet Rigshospitalet, Odense Universitetshospital, Panum Institutet, Herlev Hospital og Aalborg Universitetshospital, og flere kommer til. Det er også meget berigende at samarbejde med flere internationale grupper og universiteter i USA, Frankrig og Italien.

For tiden har ph.d.-studerende Line Nilsson fået mulighed for at suge viden til sig i forskningsleder Silvia Gregoris laboratorium på San Raffaele Telethon Institute for Gene Therapy i Milano midt i den kedelige

danske vinter. Gregoris gruppe forsker i immuntolerans. Gruppen har blandt andet beskrevet en immunregulatorisk dendritcelle i perifert blod, som er karakteriseret ved at udtrykke høje niveauer af HLA-G og udskille store mængder af det anti-inflammatoriske cytokin IL-10. Denne ”milanesiske” dendritcelle, som har fået navnet DC-10, medvirker formentlig til opretholdelse af immuntolerans ved den føto-maternelle grænseflade. Vi finder DC-10 interessant i forhold til udviklingen af præeklamsi. Line Nilssons ophold indebærer praktisk oplæring i alt fra flowcytometrisk karakterisering af DC-10 fra fuld-blod til isolering og stimulering af DC-10, cytokinmålinger og proliferationsassays. Udover at et sådant ophold giver et fagligt boost, giver det også indblik i en anden virksomhedskultur og muligheder for videnskabelige diskussioner og fordybelse i et omfang, det ikke er muligt på f.eks. en kongres af få dages varighed.

Afslutningsvis kan der reflekteres lidt over de mange bevæggrunde til at bedrive biomedicinsk forskning; for den enkelte forsker er det typisk en kompleks blanding. Men to tilgange bør stå stærkt: Nysgerrigheden – samt blikket for at forskningen i sidste ende skal bidrage til en forbedret behandling af den enkelte patient.

Referenceliste

- (1) Persson G, Melsted WN, Nilsson LL, Hviid TV. HLA class Ib in pregnancy and pregnancy-related disorders. *Immunogenetics*. 2017;69:581-95.
- (2) Hviid TV. HLA-G in human reproduction: aspects of HLA-G genetics, function and pregnancy complications. *Hum Reprod Update*. 2006;12:209-32.
- (3) Fu B, Zhou Y, Ni X, Tong X, Xu X, Dong Z, Sun R, Tian Z, Wei H. Natural killer cells promote fetal development through the secretion of growth-promoting factors. *Immunity*. 2017;47:1100-13.
- (4) Kofod L, Lindhard A, Bzorek M, Eriksen JO, Larsen LG, Hviid TV. Endometrial immune markers are potential predictors of normal fertility and pregnancy after in vitro fertilization. *Am J Reprod Immunol*. 2017;78:doi: 10.1111/aji.12684.
- (5) Melsted WN, Johansen LL, Lock-Andersen J, Behrendt N, Eriksen JO, Bzorek M, Schei-ke T, Hviid TV. Human Leukocyte Antigen class Ia and Ib molecules and FoxP3+ TILs in relation to the prognosis of malignant melanoma patients. *Clin Immunol* 2017;183:191-7.
- (6) Melsted WN, Matzen SH, Andersen MH, Hviid TV. The choriocarcinoma cell line JEG 3 upregulates regulatory T cell phenotypes and modulates proinflammatory cytokines through HLA-G. *Cell Immunol*. 2017;doi: 10.1016/j.cellimm.2017.11.008 [Epub ahead of print].
- (7) Carosella ED, Rouas-Freiss N, Tronik-Le Roux D, Moreau P, LeMaoult J. HLA-G: An immune checkpoint molecule. *Adv Immunol*. 2015;127:33-144.



Breaking the barrier between LC-MS/MS and the clinical laboratory

Introducing the Thermo Scientific™ Cascadion™
SM Clinical Analyzer

The **first** fully automated clinical analyzer with integrated
LC-MS/MS technology for small molecule analysis

You inspired us to deliver the accuracy of LC-MS/MS
technology in an easy-to-use design specific for the
clinical laboratory. Find out more at
thermofisher.com/cascadion

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Referenceintervaller for basisk phosphatase efter ændring af referencemetode

Til bestyrelsen for DSKB

VUK foreslår, at den danske anbefaling nedenfor også sendes til de øvrige nordiske lande, især til Sverige, der som det eneste land har korrigeret NORIPs referenceinterval med 8 % på et tidspunkt, hvor de initiale data viste et større niveauskifte, end det egentlig viser sig at være for NFKK Reference Serum X.

Referencemetoden for basisk fosfatase er ændret til en ny IFCC referencemetode (2011). Flere producenter har skiftet sporbarhed, og resten af producenterne forventes at skifte i nær fremtid. I Danmark anvendes NORIPs fælles referenceintervaller, der har sporbarhed til den gamle referencemetode. Ud fra data om niveauændringen er der ingen grund til at ændre/korrigere NORIPs referenceintervaller, selvom der skiftes sporbarhed. Dette betyder, at det enkelte laboratorium kan skifte kalibrering til ny sporbarhed når som helst, da der ikke er behov for et samtidigt koordineret skifte for alle danske laboratorier.

Værdien for basisk phosphatase i NFKK Reference Serum X er ændret fra 72,5 U/L (den gamle referencemetode) til 75,4 U/L med den nye IFCC (2011), 37 °C referencemetode. Dette er en ændring på 2,9 U/L eller 3,8 % i forhold til den nye referencemetode. Da bredden af referenceintervallet er 75 U/L hvilket svarer til 4 standard deviationer (sd), og da en bias $< 1/3 \cdot \text{sd}$ ($1/3 \cdot 19 \text{ U/L} = 6 \text{ U/L}$) er acceptabel, er bias forårsaget af ændringen af referencemetode (2,9 U/L) acceptabel. Derfor ændres NORIPs referenceinterval ikke.

Bemærk at IUPAC koden med gammel sporbarhed er NPU27783 og med ny sporbarhed er NPU53077.

Videnskabeligt Udvalg for Kvalitet

Inger Plum

Helle Tanderup Kristensen

Ina Mathilde Kjær

Morten Pedersen

Ivan Brandslund

Marianne Benn

DSKB Forårsmøde nr.537



Torsdag den 24. maj 2018,
Best Western
Vestre Ringvej 96,
7000 Fredericia

Formiddagssession:

Fokus på analysemetoder: Immunkemi versus LC-MS – analytiske og kliniske perspektiver

Chairman: Martin Overgaard

- | | |
|-------------|---|
| 10:00-10.10 | Velkomst og introduktion til forårsmødet
Tina Parkner, Blodprøver og Biokemi, AUH
Martin Overgaard, Afdeling for Klinisk Biokemi og Farmakologi, OUH |
| 10.10-10.25 | Vitamin D analyse I: Fra immunkemi til LC-MS og retur
Anne Schmedes, Kemiker, Biokemi og Immunologi, Sygehus Lillebælt, Vejle |
| 10.25-10.40 | Vitamin D analyse II: Forgiftningssagen – analytiske udfordringer
Palle Fruekilde, Kemiker, Afdeling for Klinisk Biokemi og Farmakologi, OUH |
| 10.40-11.10 | Vitamin D analyse III: Forgiftningssagen – et klinisk perspektiv
Henrik Thybo Christesen, Professor, HC. Andersen Børnehospital, OUH |
| 11.10-11.30 | Kaffepause |
| 11.30-12.00 | Hypofysesygdomme: Klinik, biokemi og analytiske faldgruber
Marianne Skovsager Andersen, Professor, Endokrinologisk Afdeling, OUH |
| 12.00-12.30 | Fuldautomatiseret LC-MS: Hvordan ser fremtiden ud?
Kerstin Malmstedt, Clinical Mass Spectrometry, Thermo Fischer Scientific |
| 12.30-13.30 | Frokost |

Eftermiddagssession:

Biomarkører for neurologiske sygdomme

Chairmen: Tina Parkner og Claus Hviid

- | | |
|-------------|--|
| 13:30-14:15 | Biomarkører for demenssygdomme – hvad har vi brug for?
Steen Gregers Hasselbalch, professor, Danish Dementia Research Center, Rigshospitalet |
| 14:15-15:00 | Neurofilament light chain i prognostisering af neurologisk sygdom
Claus Vinter Bødker Hviid, reservelæge, Blodprøver og Biokemi, Aarhus Universitetshospital |
| 15.00-15.20 | Kaffepause |
| 15:20-16:05 | Autoimmun encephalitis
Henning Andersen, professor, Neurologisk Afdeling, Aarhus Universitetshospital |
| 16:05-16:15 | Afslutning |
| 16:15-17:00 | DSKB Generalforsamling 2018 |

Forårsmøde i Dansk Thyroidea Selskab

Tid:
Fredag den 4. maj 2018
kl. 13-18.30
Sted:
Auditorium 1,
Rigshospitalet,
København

*Alle er velkomne,
og tilmelding er ikke nødvendig.*

Program

13.00:	Velkomst
13.00-13.20:	Præsentation af nylige phd-afhandlinger
13.20-14.00:	Symposium om thyroidea relateret biokemi
13.20-13.50:	Frie thyroidea hormoner – udfordringer og klinisk anvendelse ved Professor Ulla-Feldt Rasmussen, Endokrinologisk Afdeling, Rigshospitalet
13.50-14.00:	Nye laboratoriepakker for thyroidea analyser – eksempel fra Region Hovedstaden ved Overlæge, dr.med Nils Knudsen, Endokrinologisk Afdeling, Bispebjerg Hospital
14.00-14.30:	Pause med kaffe og kage
14.30-16.10:	The Peter Laurberg Prize Lecture
14.30-15.20:	Thyroid Biochemistry – which current challenges do we face? ved Professor Krishna Chatterjee, University of Cambridge, UK
15.20-16.10:	Thyroid Biochemistry – which future challenges do we face? ved Professor Josef Köhrle, Charité Universitätsmedizin Berlin, Germany.
16.10-16.30:	Pause
16.30-17.30:	Frie foredrag
17.30:	Afrunding og sandwich
17.30-18.30:	Generalforsamling (kun for medlemmer)

Spørgsmål til arrangementet kan rettes til Stine Linding Andersen, sekretær i Dansk Thyroidea Selskab, på e-mail: dts@dadlnet.dk

Modtagere af The Peter Laurberg Prize Lecture 2018



Krishna Chatterjee er professor i endokrinologi ved Metabolic Research Lab, University of Cambridge. Hans primære

forskningsområde inden for endokrinologien er de molekylære og genetiske aspekter ved forskellige sygdomme herunder særligt thyroidea hormon resistens. Han har skrevet talrige reviews omhandlende interferens ved thyroidea funktionsanalyser. Til forårsmødet i Dansk Thyroidea Selskab vil han tale om nuværende udfordringer inden for thyroidea relateret biokemi med særligt fokus på assay interferens.



Josef Köhrle er professor ved Institut für Experimentelle Endokrinologie, Charité Universitätsmedizin Berlin. Hans primære

forskningsområder er thyroidea hormon metabolisme og funktion herunder thyroidea hormon relaterede metabolitter og deiodinaser. Derudover beskæftiger han sig med betydningen af selen for thyroidea hormon syntese, metabolisme og funktion. Til forårsmødet i Dansk Thyroidea Selskab vil han tale om fremtidige udfordringer og muligheder inden for thyroidea relateret biokemi.

Indkaldelse til generalforsamling i DSKB

Torsdag d. 24. maj 2018 kl 16:00 - 17:00



Generalforsamlingen afholdes i forbindelse med DSKB medlemsmødet på Best Western hotel i Fredericia.

1. Valg af dirigent.
2. Forelæggelse af formandens beretning.
3. Eventuelle meddelelser fra udvalg, dannet i henhold til §§ 7-9.
4. Eventuelle meddelelser fra repræsentanter, valgt i henhold til § 6.
5. Forelæggelse af det reviderede regnskab.
6. Fastlæggelse af kontingenter.
7. Valg af et bestyrelsesmedlem og en suppleant for lægerne.
8. Eventuelt valg i henhold til § 6.
9. Eventuelt.

XXXVI NORDIC CONGRESS IN CLINICAL CHEMISTRY



12-15 JUNE 2018, HELSINKI, FINLAND



12-15 JUNE 2018,
HELSINKI, FINLAND



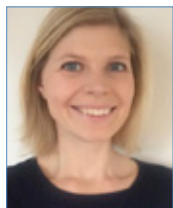
www.nfkk2018.fi

SKKV

 **IFCC**
International Federation
of Clinical Chemistry
and Laboratory Medicine

EFLM
EUROPEAN FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY
AND LABORATORY MEDICINE

Fastsættelse af krav til analysekvalitet



Ina Mathilde Kjær,
læge, ph.d.-studerende,
Birgitte Reinholdt
biokemiker,
Ivan Brandslund,
professor, Dr. med.
Biokemi og Immunologi,
Sygehus Lillebælt

Introduktion

Denne vejledning er tænkt som et inspirationsværktøj til at gøre fastsættelse af krav til analysekvalitet mere håndgribeligt.

Fundament

Fastsættelse af krav til analysekvalitet følger principper fastsat af IFCC og IUPAC ved Stockholm konferencen den 25. - 26. april 1999 (1), senere revideret i 2015 (2). Fastsættelse af krav sker ud fra følgende hierarkiske model:

Model 1

1. Direkte outcome-studier - undersøgelse af analysekvalitetens betydning for klinisk outcome
2. Indirekte outcome-studier - undersøgelse af analysekvalitetens betydning for den kliniske klassifikation, beslutningstagen og sandsynlighed for et givet outcome

Model 2

Baseret på biologisk variation af analytten

Model 3

Baseret på state-of-the-art

Model 1 anvendes, når data fra studier er tilgængelige, men de er sjældne. Hyppigst anvendes model 2 og som sidste valg model 3. Krav baseret på biologisk variation (Model 2), kan være vanskelige at opfylde i den daglige produktion, hvis den biologiske variation er lille. Omvendt kan en stor biologisk variation føre til beregning af et krav, der er uhensigtsmæssigt bredt i forhold til, hvad analysen rent faktisk kan præstere. Fastsættelse af krav kan derfor være en kombination af Model 2 og 3. Biologisk variation for mange analytter er beskrevet i et arbejde af Carmen Ricos et al. (3). Tabellen heri opdateres på Westgards hjemmeside (4). Ved opstilling af krav bør det ydermere

undersøges, om der findes krav i nationale/ internationale retningslinjer, i litteraturen eller lignende, der bør respekteres. Eksempelvis konsensus-dokumentet om krav til analyser i almen praksis (5).

Begreber

Intermediær impræcision

Den intermediære impræcision er et udtryk for graden af uoverensstemmelse mellem uafhængige måleresultater, opnået med samme analysemetode på identisk prøvemateriale i samme laboratorium, men angivet under forskellige målebetingelser (6). Den intermediære impræcision vil således over tid dække over de variationer, der kan opstå ved skift af reagenslotnumre, kalibratorer, udførende bioanalytiker mv. Impræcisionen udtrykkes som variationskoefficient (CV). CV beregnes ud fra middelværdi og standarddeviation (SD) af resultater opnået på kvalitetskontrolmateriale over en given periode. CV opgives sædvanligvis i %. Hvis en analyse kører på flere udstyr, bør det tilstræbes at samle alle kontroldata i én beregning, da det giver det bedste udtryk for præstationen i forhold til patientresultater.

Bias

Ved en metodes bias forstås afvigelsen mellem sande værdier og opnåede resultater. Sande værdier kræver anvendelse af en defineret referencemetode og -materiale. Dette er ofte ikke praktisk muligt, og derfor må i stedet anvendes forskellige tilnærmede metoder til vurdering af bias.

Den bedste tilnærmede metode til bestemmelse af bias er gentagne bestemmelser af et referencemateriale i én serie, for at reducere usikkerheden på resultatet. Seks gentagelser er det nødvendige minimum. Hyppigt anvendes NIST-, BCR-, ERM- eller WHO-

materialer. Matrix bør være beslægtet med det prøvemateriale, der skal analyseres med metoden, og der bør vælges materiale med relevant koncentrationsniveau.

En anden mulighed er deltagelse i eksternt kvalitetssikringsprogram, hvor materialerne er tillagt en targetværdi, som er fastsat under anvendelse af referencemetode og -materiale. Optimalt foretages gentagne bestemmelser på den tilsendte kontrol i én serie.

I eksterne kvalitetssikringsprogrammer, hvor materialet ikke er tillagt targetværdier, vurderes præstationen ud fra den konsensusværdi, der opnås af programmets deltagere. Herved opnås en vurdering af, om der måles ligesom andre, men der fås ikke en egentlig bestemmelse af bias.

Ved vurdering af bias skal der være opmærksomhed på, om metodens referencointerval og/eller beslutningsgrænse er fastsat på en måde, hvor en eventuel bias i forhold til referencemetode er inkluderet. Det er vigtigere, at resultater er pålidelige i forhold til beslutningsgrænse/referenceinterval end korrekte svarende til referencemetoden.

Total Error

Et analyseresultat vil være behæftet med dels en systematisk fejl (bias), dels en tilfældig fejl (CV, SD), disse to fejlkilder udgør tilsammen Total Error (TE). TE defineres således:

$$TE = \text{Bias} + Z \cdot SD$$

Z er en faktor, der svarer til t-testens styrke. På 95% niveau er $Z = 1,96$ i en tosidet t-test og $Z = 1,65$ i en ensidet t-test. Hvis bias er 0, kan man som tommelfingerregel sætte Z

= 1,96. Hvis bias er større end $0,3 \times SD$ kan man sætte $Z = 1,65$.

Fastsættelse af krav

Krav til analysekvalitet fastsættes under hensyntagen til klinikernes anvendelse af analysen, således at analyseresultaterne er pålidelige til klinisk anvendelse (7). I Figur 1 (se side 16) er opstillet et flow-diagram, der kan følges til inspiration for fastsættelse af krav. Opstillede krav bør være sporbare til anvendt kilde/beregning.

Anvendelse af krav i analyseproduktion

Den interne kvalitetskontrol skal sikre at de opstillede krav til analysen opfyldes.

Vurdering af CV i daglig drift

De opstillede krav omsættes til den CV/SD, der ønskes anvendt i analyseproduktionen for at sikre, at de fastsatte krav til CV opfyldes. Disse krav sættes mindre end eller lig med de opstillede krav. Analysens reelle præstation beregnes ud fra data opsamlet på interne kontroller.

Vurdering af bias i daglig drift

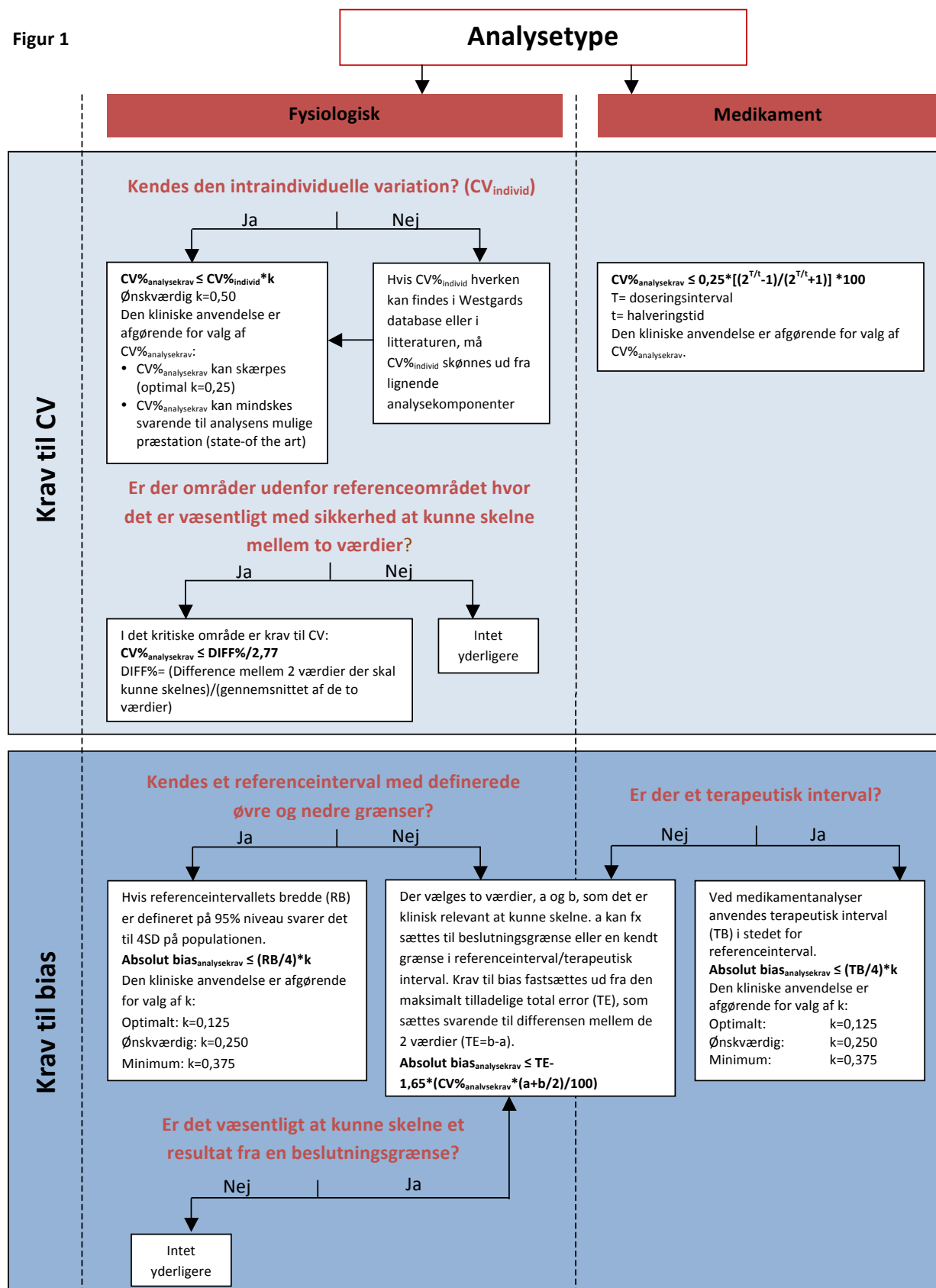
Det er ikke muligt at vurdere en egentlig bias i daglig drift. I stedet opnås et tilnærmet skøn over bias ved at vurdere metodens systematiske afvigelse fra en tillagt targetværdi på den interne kontrol. Targetværdien kan enten være fastsat lokalt eller overtaget fra leverandøren. De opstillede krav til bias kan bruges til at vurdere, om den præsterede middelværdi er acceptabel i forhold til targetværdien.

Kommentarer til indlægget om Fastsættelse af krav til analysekvalitet er meget velkomne og bedes stilet til Ina Mathilde Kjær via mail: Ina.Mathilde.Kjaer@rsyd.dk

Referenceliste

- (1) Scand J. Clin. Lab Invest 59 (7), 425-586, 1999
- (2) Clin Chem Lab Med, Volume 53, Issue 6 (May 2015) Special issue: 1st EFLM Strategic Conference - "Defining analytical performance goals – 15 years after the Stockholm Conference"
- (3) C. Ricós et al, Scand J Clin Lab Invest 1999; 59:491-500
- (4) <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>
- (5) Kvalitetskrav og kvalitetsvurderingssystem for hyppigt udførte klinisk biokemiske og klinisk mikrobiologiske analyser i almen praksis, November 2003. Udformet som konsensus-dokument af: Laboratorieudvalget under Fagligt Udvalg vedr. Almen Praksis, Dansk institut for Ekstern Kvalitetssikring for Laboratorier i Sundhedssektoren (DEKS) og Dansk Selskab for Klinisk Biokemi's videnskabelige udvalg for analysekvalitet
- (6) DSKB's anbefaling til metodevalidering: Validering af analysemetoder i klinisk biokemiske laboratorier, 1. oktober 2010
- (7) Rainer Haeckel et al., Clin Chem Lab Med 2011;49(4):623-635

Figur 1



Westgards database: <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>

Kvalitetskrav og kvalitetsvurderingssystem for hyppigt udførte klinisk biokemiske og klinisk mikrobiologiske analyser i almen praksis, November 2003. Udformet som konsensus-dokument af: Laboratorieudvalget under Fagligt Udvalg vedr. Almen Praksis, Dansk institut for Ekstern Kvalitetssikring for Laboratorier i Sundhedssektoren (DEKS) og Dansk Selskab for Klinisk Biokemi's videnskabelige udvalg for analysekvalitet

Callum Fraser, Biological Variation: From Principles to Practice, Amer. Assoc. for Clinical Chemistry

Ioniseret calcium – et problembarn

DSKBs bestyrelse

DSKB's bestyrelse fik en henvendelse fra ledende overlæge Pia Rørbæk Kamstrup, Herlev Gentofte, der skrev: "Ioniseret calcium har vundet indpas i Skandinavien som den foretrukne analyse til måling af calcium i hospitals regi. I resten af verden anvendes total calcium eller albuminkorrigeret calcium. Det udfordrer klinisk biokemi, da det lille skandinaviske marked ikke ansporer firmaerne til at udvikle udstyr, der kan måle ioniseret calcium og slet ikke udstyr, der passer til et automatiseret laboratorium. Ioniseret calcium er også problematisk grundet kort holdbarhed efter prøvetagning samt mangel på sporbart kontrolmateriale."

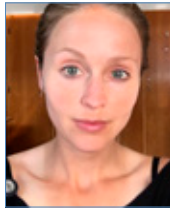
Vi drøftede sagen i bestyrelsen og var helt enige i, at den udbredte brug af ioniseret calcium er udfordrende. Vi bad derfor det Videnskabelige Udvalg for Kvalitet (VUK) om en udtalelse.

VUK svarede: "Sundhedsstyrelsens anbefalinger for kræftpakkeforløb og Praksisvejledningerne (se for eksempel Laboratoriemedicin i almen praksis, Rationel anvendelse og kvalitetsudvikling i samspillet med de laboratoriemedicinske afdelinger, Redaktion: Bente Gahrn-Hansen, Per Grindsted, Bo Jørgensen og Anders Munck) anbefaler anvendelse af total calcium/albumin korrigeret calcium.

VUK foreslår, at de danske laboratorier henholder sig til SST og Praksisvejledningerne. Anvendelse af total calcium er valgt ud fra faglige, praktiske og samfundsøkonomiske hensyn."

Bestyrelsen har diskuteret, hvorvidt vi skulle henvende os til de relevante faglige selskaber og udarbejde fælles retningslinjer for brug af ioniseret calcium. Men vi har foreløbigt valgt, at udtalelsen fra VUK er tilstrækkelig.

DSKB-udvalg for etablering af graviditetsspecifikke referenceintervaller



Pia Bükmann Larsen,
1. Reservelæge,
b. scient. san. publ.,
Klinisk Biokemisk Afdeling,
Amager og Hvidovre Hospital

Et nyetableret lægefagligt udvalg under DSKB afholdt i januar det første møde. Udvalget har fået til opgave at vurdere, om anbefalingerne til graviditetsspecifikke referenceintervaller, udarbejdet af et lægefagligt udvalg under Klinisk Vejledningsgruppe for Region Nord- og Midtjylland, kan udbredes til hele landet. Det drejer sig om referenceintervaller for de hyppigst anvendte analyser i almen kemi, immunkemi og hæmatologi. Derudover vil DSKB-udvalget vurdere, hvorvidt det er muligt at etablere nationale graviditetsspecifikke referenceintervaller for de hyppigst anvendte koagulationsanalyser.

Udvalget består af formand Anette Tarp Hansen, afdelingslæge på Aalborg Universitetshospital, Rie McGrail, overlæge på Regionshospitalet Randers, Jesper Revsholm, afdelingslæge på Odense Universitetshospital og Pia Bükmann Larsen, 1. reservelæge på Amager og Hvidovre Hospital.

Har du en POCT-case?

Hvis du har en case om POCT (Point of Care Testing), vil DSKB-Nyt meget gerne høre fra dig – vi indsamler cases til et temanummer om POCT, der vil komme i løbet af det nye år. Du kan kontakte DSKB-Nyt via redaktør Eva Rabing Brix Petersen på eva.rabing.brix.petersen@rsyd.dk

Undersøgelse for IGHV mutationsstatus ved kronisk lymfatisk leukæmi (CLL) og stereotypi af B-celle receptoren



Lone Bredo Pedersen,
forskningsbioanalytiker,
Leukæmi laboratoriet,
Hæmatologisk Klinik,
Rigshospitalet
Fie Juhl Vojdeman, læge, ph.d.,
Klinisk Biokemisk Afdeling,
Bispebjerg Frederiksberg Hospital.



Baggrund

Kronisk lymfatisk leukæmi (CLL) er en monoklonal B-celle malignitet, som er karakteriseret ved ekspansion af modne B-celler i de lymfoide organer og i blodet. Diagnosen stilles ved overflademærkundersøgelse samt udstryk af perifert blod, hvor der skal være mere end 5 mia. CLL-celler/L blod. Det er den hyppigste af de hæmatologiske cancerte i Danmark med ca. 400 nye tilfælde/år. Flere mænd end kvinder får CLL og incidensen stiger med alderen. Sygdommen er endnu uhelbredelig og har et heterogent forløb, hvilket giver udfordringer ved information om forventning til prognose i klinisk praksis.

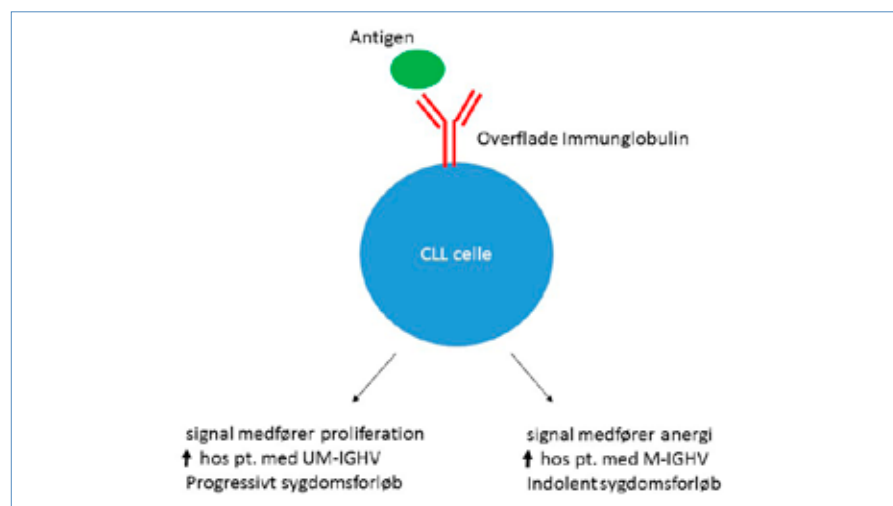
B-celle receptoren er central i patogenesen ved CLL

B-celle receptoren (BCR) er det immunglobulinmolekyle, som sidder i cellemembranen på CLL cellen og definerer CLL klonen i forhold til andre B-celler. De fleste patienter har kun én CLL klon og derfor kun én specifik BCR. CLL cellen holdes i live ved, at BCR stimuleres konstant, hvilket enten kan medføre en tilstand af anergi i varierende grad eller inducere proliferation

(Figur 1). Anergi er en form for cellulær dvale. Hæmmere af molekyler i BCR signaleringsvejen, såsom Bruton's Tyrosin Kinase hæmmere ibrutinib, stopper denne konstante signalering og dermed de afledte effekter på cellerne og mikromiljøet, og dette medfører en bedring af symptomer hos patienterne.

Immunglobulin-tung-kæde gener (IGHV gener)

I mennesket findes der ca. 10^4 - 10^{11} forskellige B-celler med hver deres unikke BCR. B-cellerne udvikler deres specificitet gennem re-arrangering af deres IGHV, IGHD og IGHJ gener, som findes i det 'germline' DNA, der koder for den tunge kæde af immunglobulinet på stamcelle niveau (Figur 2). Herigennem kan der kombineres multiple gensegmenter, som teoretisk kan producere op til 10^{14} forskellige BCR. Efter møde med den umodne B-celles specifikke antigen, undergår den somatisk hypermutation og affinitetsmaturation i germinalcentrene i det lymfoide væv. Herefter er B-cellen post-germinal og kan ved rette T-celle stimulus videreudvikle sig til en antistof-producerende plasma-



Figur 1: Skematisk oversigt over CLL celle med overflade immunglobulin, der kan binde antigen og derved aktiveres til proliferation, primært hos patienter med umuterede IGHV gener (UM-IGHV) eller inducere anergi, primært hos patienter med muterede IGHV gener (M-IGHV).



For results you can rely on

Patient health is reliant on accurate and timely diagnosis but this can only be facilitated through the use of high quality diagnostic testing solutions. The Randox range of reagents and quality controls are designed around offering the highest quality possible and provide the ultimate in performance, ensuring accurate and reliable results are delivered.

RANDOX
QUALITY CONTROL

Our comprehensive range of QC solutions will not only help to deliver accurate patient results but will reduce time and costs in any laboratory.

Acusera – Third party controls combining up to 100 analytes

Acusera 24.7 – Manage and interpret QC data via access to charts and peer group data

RIQAS – The largest global EQA scheme serving over 24,000 participants

RANDOX
REAGENTS

Quality is at the heart of every Randox reagent – with Randox reagents you can be confident you are using products of the highest quality, enabling you to report the most accurate results.

Randox Reagents

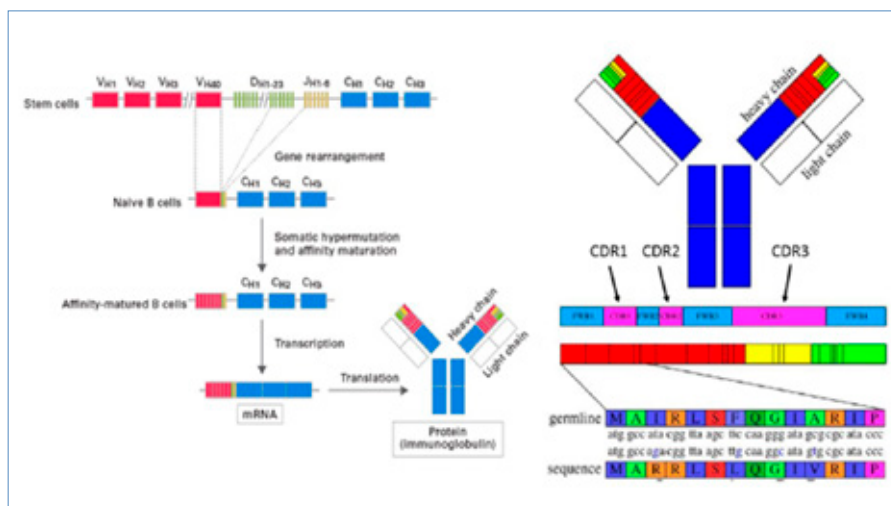
- Excellent correlation to reference methods
- Minimum lot-to-lot variability
- High performance methodologies
- Range of speciality tests available

For more information please contact Lovmand Diagnostics

LOVMAND

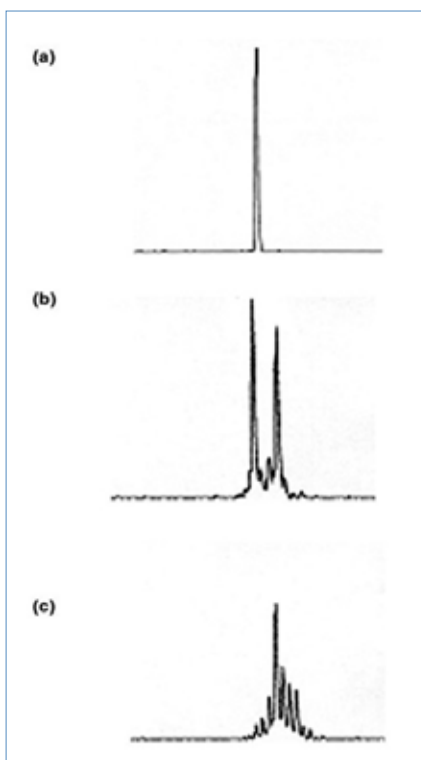
Lovmand Diagnostics, Tulstrupvej 5, Tulstrup DK-8340 Malling, Danmark
T: +45 22789540 F: +45 86930430 E: steen@lovmand.com W: www.lovmand.com

Figur 2: Skematisk oversigt af germline IGHV, IGHD, IGHJ generne, B-celle modning og BCR immunglobulinet.



celle. Hos patienter med CLL kan BCR have varierende grad af muterede gener i forhold til germline DNA, afhængig af i hvilken grad cellen har undergået somatisk hypermuta-

tion. Patienter, der har umuterede IGHV gener, har som gruppe en mere aggressiv sygdom end patienter, der har muterede IGHV gener (1).



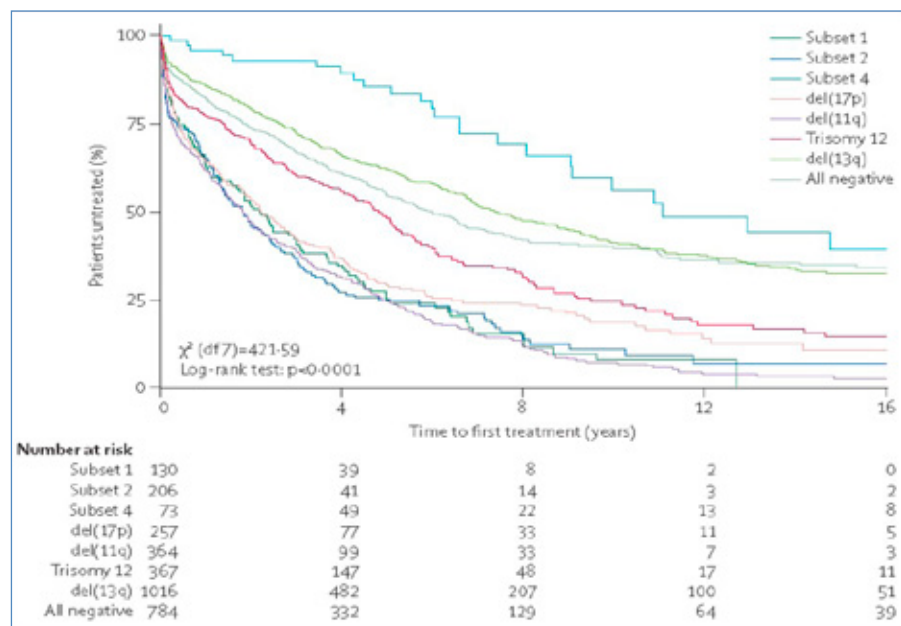
Figur 3: Eksempler på a) monoklonalitet, b) oligoklonalitet og c) polyklonalitet.

IGHV mutationsstatus

Selve undersøgelsen for IGHV mutationsstatus udføres efter European Research Initiative on CLL (ERIC) guidelines, senest opdateret i 2017 (2). Den anbefalede antikoagulation er EDTA og mest anvendte biologiske materiale er knoglemarvsaspirat, perifert blod eller vævsbiopsi. Genomisk (gDNA) eller complementary DNA (cDNA) analyseres ved hjælp af specifikke primere og amplificeres med multiplex PCR, PCR amplicon analyseres med GeneScan. cDNA har den fordel, at det kun angiver det funktionelle gen re-arrangement. Genescan analysen kan vise enten monoklonalt, oligoklonalt eller polyklonalt signal (Figur 3).

DNA sekvensen analyseres i IMGT/V-QUEST (www.imgt.org), der angiver % identitet til germline IGHV genet. Analyse for IGHV mutationsstatus afrapporteres med angivelse af metodologi og genidentifikation for det produktive rearrangement.

Figur 4: Kaplan-Meier kurve for tid til første behandling (time to first treatment) ud fra om patienterne tilhører et BCR stereotypi subset, eller har cytogenetiske aberrationer ved FISH. Figuren er fra (5).



Svaret klassificeres klinisk som værende umuteret i forhold til germline, hvis $\geq 98\%$ og som muteret, hvis $< 98\%$ (% identitet rapporteres som borderline muteret, hvis 97-97,9%). I ca. 3-5 % af cases findes flere produktive re-arrangementer af IGHV-genet, der kan tolkes som oligoklonalitet (2).

Stereotypi af BCR

Stereotypi af BCR defineres som minimum 50% homologi mellem aminosyresekvensen i CDR3 (complementarity determining region 3) på BCR. Derudover skal aminosyresekvensen have samme længde, bestemte positioner for aminosyrer skal være opfyldt, og der skal være mindst 70% overensstemmelse mellem de fysisk-kemiske egenskaber af aminosyrerne, således at den tredimensionelle struktur vil være ensartet. IGHV, IGHD og IGHJ generne skal desuden tilhøre samme fylogenetiske klan (3). CDR3 er sammen med CDR1 og CDR2 de områder, der udgør den variable del af BCR, hvortil antigenet kan binde sig (Figur 2). Denne lighed mellem antigenbin-

dingsstedet på BCR på tværs af forskellige patienter tyder på, at der kan være et fælles antigen som ophav til sygdommen, eller som vedligeholder CLL klonen hos grupper af patienter med CLL. Disse grupper kaldes stereotype BCR subsets. Analyse for stereotypi kan ligeledes udføres i forbindelse med undersøgelse af IGHV mutationsstatus vha. ARResT/AssignSubsets software (4).

Den kliniske betydning af stereotypi ved CLL

Den tredjedel, der tilhører de stereotype BCR subsets, udviser signifikante forskelle mht. alder, kønsfordeling, sygdomsbyrde og andre prognostiske faktorer såsom cytogenetiske aberrationer (5). Ligeledes følger patienter, der tilhører et bestemt subset samme kliniske forløb, hvorimod patienter, hvis klon anvender samme IGHV gen, men ikke tilhører samme subset, har forskellige kliniske forløb. Ved at integrere 3 udvalgte subsets, som samlet set udgør ca. 7% af alle patienter med CLL i Döhners cytogenetiske prognostiske model for CLL (6), ses en sær-

lig dårlig prognose for subset #1 og #2. Prognosen for disse to subsets er lige så dårlig som prognosen for patienter med deletion af den korte arm af kromosom 17 eller deletion af den lange arm af kromosom 11, som har en median overlevelse på hhv. 32 og 79 måneder. Herimod har patienter tilhørende subset #4 en endnu bedre prognose end patienter med deletion af den lange arm af kromosom 13, som har en forventet median overlevelse på 133 måneder (Figur 4).

Konklusion

IGHV mutationsstatus og analyse for stereotypi af BCR giver et væsentligt bidrag til prognosticering ved sygdommen CLL. Data tilvejebringes ud fra samme analyse af IGHV gener. Øget international harmonisering vil bevirke, at man i højere grad kan poole data for at opnå mere viden om prognosen for mindre grupper af patienter med CLL, hvis klon anvender samme IGHV gen, eller tilhører samme BCR stereotype subset.

Referenceliste

- (1) Damle RN, Wasil T, Fais F, Ghiotto F, Valetto A, Allen SL, et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999 Sep 15;94(6):1840-7.
- (2) Rosenquist R, Ghia P, Hadzidimitriou A, Sutton LA, Agathangelidis A, Baliakas P, et al. Immunoglobulin gene sequence analysis in chronic lymphocytic leukemia: updated ERIC recommendations. *Leukemia*. 2017 Jul;31(7):1477-81.
- (3) Stamatopoulos K, Agathangelidis A, Rosenquist R, Ghia P. Antigen receptor stereotypy in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2017 Feb;31(2):282-91.
- (4) Bystry V, Agathangelidis A, Bikos V, Sutton LA, Baliakas P, Hadzidimitriou A, et al. ARResT/AssignSubsets: a novel application for robust subclassification of chronic lymphocytic leukemia based on B cell receptor IG stereotypy. *Bioinformatics (Oxford, England)*. 2015 Dec 1;31(23):3844-6.
- (5) Baliakas P, Hadzidimitriou A, Sutton LA, Minga E, Agathangelidis A, Nichelatti M, et al. Clinical effect of stereotyped B-cell receptor immunoglobulins in chronic lymphocytic leukaemia: a retrospective multicentre study. *The Lancet Haematology*. 2014 Nov;1(2):e74-84.
- (6) Dohner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Krober A, Bullinger L, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *The New England journal of medicine*. 2000 Dec 28;343(26):1910-6.

Ny udgave af retningslinjen for M-Komponent-analyser



Mie Hessellund Samson,
Overlæge, klinisk lektor,
Blodprøver og Biokemi,
Aarhus Universitetshospital

I 2012 udgav Dansk Selskab for Klinisk Biokemi (DSKB) og Dansk Myelomatose Studie Gruppe (DMSG) den første danske retningslinje for M-komponent analyser. Retningslinjen var et vigtigt skridt på vejen mod den harmonisering af analyserne, som skal sikre optimal diagnostik, ensartet monitorering og ensartede kliniske protokoller. Retningslinjen viste sig at blive et vigtigt og brugbart dokument, som i høj grad bragte os nærmere den ønskede ensartethed.

Siden 2012 er der, drevet af kliniske studier og nye behandlingsmuligheder, sket en udvikling af både diagnostiske kriterier og krav til monitorering af patienter med M-komponent sygdomme, fx monitorering af minimal residual disease (MRD). Der sker desuden i disse år en udvikling af nye analyser. Det var dog specielt udviklingen inden for anvendelsen af frie lette kæder, der gjorde det nødvendigt at nedsætte den arbejdsgruppe, der nu har revideret retningslinjen.

M-komponent analysering foretages i dag på regionalt eller højt-specialiseret niveau på Rigshospitalet, i Herlev, Roskilde, Næstved, Odense, Vejle, Esbjerg, Århus, Holstebro og Aalborg.

I maj 2016 nedsattes arbejdsgruppen bestående af hæmatologer og DSKB-repræsentanter fra alle ovennævnte afdelinger. Der blev hurtigt formuleret en liste over emner, der skulle tages stilling til.

Spørgsmålene blev fordelt på to grupper, der arbejdede selvstændigt hen over efteråret 2016.

De to gruppers arbejde blev derefter samlet, og på et møde i april 2017 blev det samlede arbejde gennemgået, og den endelige retningslinje kunne godkendes i juli 2017.

I det følgende er de væsentligste ændringer i retningslinjen gennemgået, med udgangspunkt i de emner vi arbejdede med.

Frie lette kæder indgår i førstegangsprøver

Indtil for nylig har den internationale anbefaling ved mistanke om myelomatose været at rekvirere samtidig undersøgelse for M-komponent i plasma og urin (P-M-komp og U-M-komp). Talrige studier har imidlertid vist, at analysering af frie lette kæder i plasma (FLC) er mindst lige så sensitiv som urinundersøgelse i forhold til detektion af myelomatose herunder letkædesygdom (Bence Jones proteinuri). Kun ved mistanke om amyloidose anbefales det fortsat at anvende urinundersøgelse(1). I 2014 udkom the International Myeloma Working Group med opdaterede diagnostiske kriterier for myelomatose(2), og det øgede fokus her på anvendelsen af frie lette kæder har nok været det sidste skub, der medførte at flere lande, herunder Storbritannien, nu har valgt at anvende P-M-komp sammen med FLC som førstegangsprøver ved mistanke om myelomatose. Denne anbefaling har vi nu med den nye retningslinje tilsluttet os.

Tilbage står implementeringen af denne beslutning. I dag modtages kun et fåtal af de urinprøver, der burde modtages. Årsagen er formentlig besværet med urinopsamlingen, og overgangen til analysering af FLC på plasma gør det muligt at sikre, at alle patienter, der modtages blodprøver på til analysering af P-M-komp, også får analyseret FLC. Der er dog en udfordring, som retningslinjen ikke adresserer: Det forøgede antal analyser, som indførelsen af FLC vil medføre, vil ganske givet medføre økonomiske udfordringer. En udfordring som må løses regionalt.

Krav til analysekvalitet

I den oprindelige retningslinje var der angivet krav til analysekvaliteten ved kvantificeringen af M-komponenter i plasma. Der er nu tilføjet lignende krav for FLC. Kravene

Eksempler på svar

Monitorering af patient		06/06/2011	05/11/2011	15/01/2012 §	02/02/2013§	04/03/2013§	30/03/2013
NPU17675	M-komponent;P	PÅVIST	PÅVIST	PÅVIST	PÅVIST	OLIGO**	IKKE PÅVIST
NPU19846	M-komponent gruppe;P						
NPU28638	IgG (kappa;monoklonalt);P	12 g/L	4 g/L	< 1 g/L	PÅVIST*	IKKE PÅVIST	
NPU28634	IgA (kappa;monoklonalt);P			< 1 g/L	PÅVIST*	IKKE PÅVIST	
NPU28875	M-komponent (immunfiksation);P			UDFØRT	UDFØRT	UDFØRT	UDFØRT
NPU17676	M-komponent;U	IKKE PÅVIST					

Noter afgivet med svaret: *Kan ikke kvantificeres. Kun detekterbar ved immunfiksation. **Oligoklonalt mønster, ingen sikker M-komponent

Urin M-komponent påvist og kvantificeret i døgnurin		
NPU17675	M-komponent;P	IKKE PÅVIST
NPU17676	M-komponent;U	PÅVIST
NPU29119	M-komponent gruppe;Pt(U)	
NPU28865	Kappa-kæde (frit;monoklonalt);Pt(U)	0,74 g/d
NPU28855	IgA (kappa;monoklonalt);Pt(U)	0,15 g/d

Urin M-komponent påvist i spoturin		
NPU17675	M-komponent;P	IKKE PÅVIST
NPU17676	M-komponent;U	PÅVIST
NPU57522	M-Komponent (semikvant) gruppe	
NPU29236	Kappa-kæde(frit;monoklonalt);U	PÅVIST

er fremkommet dels på baggrund af kliniske krav og dels på baggrund af resultater fra en prøverundersending til de danske laboratorier i efteråret 2016. Som en konsekvens af dette og i overensstemmelse med DSKBs anbefalinger(3), tager retningslinjen nu også stilling til, hvor mange betydende cifre et svar bør afgives med.

Flere FLC-kits på markedet

Der har i en årerække været kits fra flere leverandører på markedet. Men, modsat tidligere er kittet fra The Binding Site (Freelite®) ikke længere altdominerende, og der findes kliniske studier, der anvender forskellige kits. Den reviderede retningslinje beskriver de to hyppigst anvendte kits fra henholdsvis The Binding Site og Siemens, med angivelse af referenceintervaller og forskellene

i resultater for de to kits hos patienter med nyresygdom.

Interferens fra monoklonale antistoffer

Flere og flere myelomatosepatienter behandles med biologiske lægemidler i form af monoklonale antistoffer. Der er i øjeblikket to stoffer på markedet (Daratumumab og Elotuzumab), begge af typen IgG kappa. I sagens natur kan tilstedeværelsen af disse stoffer i patientens blod detekteres ved undersøgelse for M-komponent og medfører dermed en potentiel risiko for at kunne fejltolkes som en nyopstået klon eller en manglende evne til at bringe patienten i komplet remission ved monitorering af MRD. Retningslinjen beskriver problematikken og en anbefalet håndtering. Der er udviklet og udvikles fortsat analysemetoder

til detektion af interferens fra monoklonale antistoffer, og det anbefales, at der ved mistanke om interferens udføres én af disse analyser.

Ingen nedre grænse for rapportering af små M-Komponenter

Små M-komponenter kan ses forbigående hos raske personer, og små M-komponenter er ofte uden klinisk betydning. Det blev derfor i gruppen diskuteret, om dette kunne begrunde en "bagatelgrænse" for rapporteringen af nyopdagede meget små M-komponenter. Beslutningen blev, at alle nyopdagede M-komponenter skal rapporteres, da selv små M-komponenter kan være tegn på alvorlig sygdom, og laboratorierne har ingen mulighed for at udskille netop disse patienter.

Beskrivelse af Hevylite-assayet

Hevylite-assayet fra the Binding Site har været foreslået anvendt til diagnostik, monotorering, detektion af tilbagefald samt som prognostisk/prædiktiv markør. Enkelte studier viser også øget sensitivitet for visse undergrupper af patienter, men der vurderes på nuværende tidspunkt ikke at være tilstrækkelig evidens for anvendelsen af metoden i klinisk praksis. Retningslinjen giver et resumé af den eksisterende evidens på området.

Anbefaling vedrørende anvendelsen af NPU-koder

Rekvisation og især svarafgivelse for M-komponent-analyser er, omend både systematisk og stringent, ganske kompliceret (figur 1). Som før indeholder retningslinjen et appendix med eksempler på rekvisation og svar. Dette er opdateret, og der er tilføjet en samlet liste over de anvendte NPU-koder.

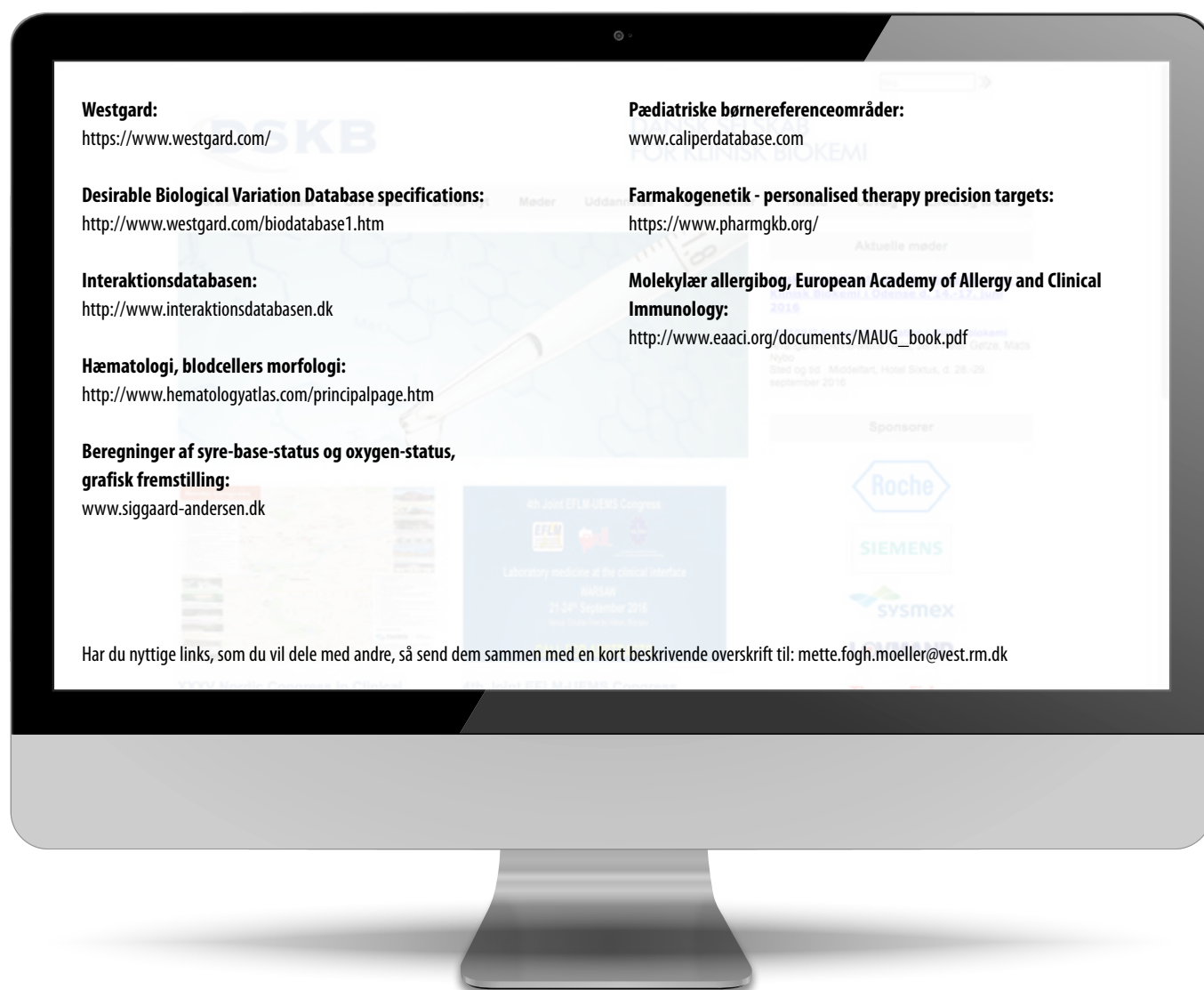
Afsluttende bemærkninger

Den reviderede retningslinje kan findes på DSKBs hjemmeside(4). Den er skabt i et positivt og engageret samarbejde mellem hæmatologer og klinisk biokemikere. Resultatet er en opdateret og gennemarbejdet rapport, der på en præcis og overskuelig måde redegør for gældende anbefalinger på området. For den interesserede læser er baggrundsmaterialet for rapporten samlet i et mere omfattende afsnit med appendices. Mulighederne for at nå det sidste skridt på vejen mod harmonisering af analyserne, optimal diagnostik og ensartet monitorering er derfor bestemt til stede.

Referenceliste

- (1) Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, et al. International myeloma working group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia*. 2009;23(2):215-224.
- (2) Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International myeloma working group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2014;15(12):e538-48.
- (3) Rekommandation for antallet af betydende cifre på klinisk biokemiske laboratorier. DSKB 2016. <http://www.dskb.dk/cms/?cmsid=658&pageid=18757>
- (4) Dansk retningslinje for M-komponent analyser. GUIDELINES DSKB/DMSG 2017. <http://www.dskb.dk/cms/default.aspx?clubid=7479&m=5017537&cmsid=658&pageid=18504&>

Nyttige links



Bidrag til Nyttige links kan sendes til Mette Fogh Møller, e-mail: mette.fogh.moeller@vest.rm.dk

Nyt om navne – 1, 2018

Udnævnelser og akademiske grader

Overlæge, dr.med Jens Peter Gøtze, ansat på Rigshospitalet, Klinisk Biokemisk Afd. er pr. 1. august 2017 udnævnt til professor ved Biomedicinsk Institut ved Københavns Universitet. Tiltrædelsesforelæsning blev afholdt d. 23. februar 2018.

Kemiker Christina Munch Jensen er ansat som kvalitetskoordinator/kemiker på KBA Amager-Hvidovre Hospital fra 1. februar 2018. Christina kommer fra en kemikerstilling på Bispebjerg Frederiksberg Hospital.

Speciallæge i Klinisk Biokemi Morten Mørk er pr. 1. februar 2018 ansat som afdelingslæge i Klinisk Biokemi, Aalborg Universitetshospital.

Reservelæge Freja Eriksen er ansat i hoveduddannelsesstilling i Klinisk Biokemi (kombination af Amager-Hvidovre og Køge-Roskilde) fra 1. marts 2018.

Reservelæge Tina Goharian er pr. 1. marts 2018 ansat i en introduktionsstilling ved Klinisk Biokemisk Afd., Nordsjællands Hospital.

Reservelæge Anders Mønsted Abilgaard er pr. 1. maj 2018 ansat i hoveduddannelse på Blodprøver og Biokemi, Aarhus Universitetshospital.

Nye medlemmer i DSKB

Stefan Stender, Reservelæge i hoveduddannelse i Klinisk Biokemi, Rigshospitalet.

Mette Schrøder, Biokemiker, Klinisk Biokemisk Afdeling, Rigshospitalet.



Møde- og kursuskalender

2018

Danske møder:

- 13.-15. marts: Kursus i endokrinologi (Læger og Biokemikere), Hotel Haraldskær, Vejle
Delkursusledere: Anders Johnsen, Linda Maria Hilsted og Eva Rabing Brix Petersen
- 15.-17. maj: Kursus i præanalyse og POCT (Biokemikere), Hotel Haraldskær, Vejle
Delkursusledere: Betina Klint Nielsen og Pia Bükmann Larsen
- 29.-31. maj: Kursus i molekylærbiologi i Klinisk Biokemi (Læger og Biokemikere), Hotel Haraldskær, Vejle
Delkursusledere: Stig E. Bojesen og Peter H. Nissen
24. maj: DSKBs forårsmøde, Fredericia (OBS ny dato). Ansvarlige: Martin Overgaard og Tina Parkner
- 23.-25. oktober: Nordisk kursus: The Professional Role of a Clinical Biochemist/Laboratory Doctor, Comfort Hotel, København
Delkursusledere: Linda Maria Hilsted og Nete Hornung
30. oktober-1. november: Kursus i organisation og ledelse (Biokemikere), Hotel Haraldskær, Vejle
Delkursusledere: Thomas Broeng Ejning og Jonna Skov Madsen

Internationale møder:

- 20.-23. februar: 62nd Annual meeting of the society of thrombosis and hemostasis research, Wien, Østrig
- 16.-17. marts: Nordic Platelet Symposium, Malmø, Sverige
- 12.-15. juni: XXXVI Nordic Congress in Clinical Chemistry, Helsinki, Finland
- 18.-19. juni: 2nd EFLM Strategic Conference. The end of laboratory medicine as we know it? Handling disruption of laboratory medicine in digital health, Mannheim, Tyskland
- 21.-22. juni: 7th International Symposium on Critical Care Testing and Blood Gases, Antibes, Frankrig
- 2.-4. juli: 1st IFCC, EFLM, AFCB Conference "Laboratory medicine meeting the needs of Mediterranean nations", Rom, Italien
- 26.-29. september: The Role of Point-of-Care Testing in a Value-Based Healthcare Landscape: 27th AACC International CPOCT Symposium, Washington, USA
- 4.-5. oktober: Mass Spectrometry and Separation Sciences for Laboratory Medicine 8th Annual Conference, Philadelphia, USA

Yderligere information om internationale møder og kongresser:

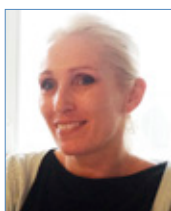
- www.dskb.dk
- www.dsth.dk
- www.ifcc.org/ifcc-congresses-and-conferences
- European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine: efccm.eu/
- American Association for Clinical Chemistry: www.aacc.org



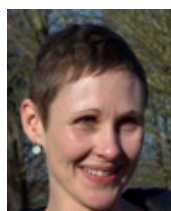
Dansk Selskab for Klinisk Biokemi

www.dskb.dk

Ansvarshavende redaktører for bladets sektioner:



Redaktionsgruppe medlem
Tina Parkner
tina.parkner@auh.rm.dk



Redaktør
Eva Rabing Brix Petersen
eva.rabing.brix.petersen@rsyd.dk



Redaktionsgruppe medlem
Stine Linding Andersen
stine.a@rn.dk



Nyttige Links
Mette Fogh Møller
mette.fogh.moeller@vest.rm.dk



Formand
Lise Bathum
lise.bathum@regionh.dk



Nyt om navne
Fie Juhl Vojdeman
fie.juhl.vojdeman01@regionh.dk



Webredaktør
Emil Daniel Bartels
emil.daniel.bartels@rh.regionh.dk



Kalender
Cindy Søndersø Knudsen
cindy.knudsen@aarhus.rm.dk

Annoncebestilling og yderligere information:

Eva Rabing Brix Petersen,
Afdeling for Klinisk Biokemi og Farmakologi,
Odense Universitetshospital,
e-mail: eva.rabing.brix.petersen@rsyd.dk

Reduce Antibiotics

Antibiotic overuse contributes to increasing antimicrobial resistance, increased risk of drug-related adverse events and higher medical costs. Antibiotic guidance with B·R·A·H·M·S PCT™ **limits antibiotic prescription** to patients with true bacterial infection, allows to **tailor the duration of antibiotic therapy** for individual patients, and **reduces significantly the antibiotic exposure** with no adverse impact on patient outcome.

B·R·A·H·M·S PCT assays



• For more information visit us at thermoscientific.com/procalcitonin

AB days without
Procalcitonin

-23%
AB days in Sepsis¹

-35%
AB days in LRTI²



Automated sensitive assays

B·R·A·H·M·S PCT™ sensitive KRYPTOR™
 ADVIA Centaur® B·R·A·H·M·S PCT™
 ELECSYS® B·R·A·H·M·S PCT™
 LIAISON® B·R·A·H·M·S PCT™ II GEN
 Lumipulse® G B·R·A·H·M·S PCT™
 VIDAS® B·R·A·H·M·S PCT™

Manual assay

B·R·A·H·M·S PCT™ LIA

POC tests

B·R·A·H·M·S PCT-Q™
 Samsung IB B·R·A·H·M·S PCT™

1. Bouadma L et al. Lancet 2010, 375 (9713): 463-474 2. Schuetz P et al. Expert Rev Anti Infect Ther 2010, 8 (5): 575-87.
 © 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. B·R·A·H·M·S PCT™ and all other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. ADVIA Centaur® is a registered and protected trademark belonging to Siemens Healthcare Diagnostics. ADVIA Centaur® B·R·A·H·M·S PCT™ is a product of Siemens Healthcare Diagnostics licensed from Thermo Fisher Scientific. Elecsys® is a registered and protected trademark belonging to Roche or one of its subsidiaries. Elecsys® B·R·A·H·M·S PCT™ is a product of Roche licensed from Thermo Fisher Scientific. LIAISON® is a registered and protected trademark belonging to DiaSorin S.p.A. LIAISON® B·R·A·H·M·S PCT™ II GEN is a product of DiaSorin S.p.A. licensed from Thermo Fisher Scientific. Lumipulse® is a registered trademark of Fujirebio Inc. in Japan and in other countries. Lumipulse® G B·R·A·H·M·S PCT™ is a product of Fujirebio Inc. licensed from Thermo Fisher Scientific. Samsung IB B·R·A·H·M·S PCT™ is a product of Samsung C&T Corporation licensed from Thermo Fisher Scientific. VIDAS® is a registered trademark of bioMérieux S.A. or one of its subsidiaries. VIDAS® B·R·A·H·M·S PCT™ is a product of bioMérieux licensed from Thermo Fisher Scientific. KRYPTOR is a registered trademark of CIS bio international, licensed for use by B·R·A·H·M·S, a part of Thermo Fisher Scientific. Thermo Fisher Scientific products are distributed worldwide; not all intended uses and applications mentioned in this printing are registered in every country.

