

DSKB-NYT

Medlemsblad for Dansk Selskab for Klinisk Biokemi



Nr. 2 Maj 2022

DSKB-Nyt redaktionsgruppe
– samlet til redaktionsgruppemøde i februar 2022.

Indhold:

- » Nyt fra Bestyrelsen
- » Hjælp vi flytter! Erfaringer fra flytning til et nybygget hospital
- » Case: Lakridsinduceret svær hypokalæmi
- » Underdiagnosticeres blodprop i hjertet hos kvinder?
- » Zink – er det en problematisk analyse?
- » Ekstracellulære vesikler er cirkulerende cellulære biopsier og fremtidens diagnostiske biomarkører
- » Præanalytiske betragtninger for effektiv brug af cel-lefrit DNA fra en blodprøve til diagnostiske analyser
- » YLKB-siden: Hoveduddannelseskurser - tid til en opdatering?
- » Nyt 'Diagnostisk pakkeforløb'
- » Svedtesten – erfaringer fra to Klinisk Biokemiske Afdelinger i Danmark
- » Årsregnskab for DSKB 2021
- » Nyt om navne

Count on the Enhanced Liver Fibrosis (ELF™) Test

Assess the risk of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)/non-alcoholic steatohepatitis (NASH) progression and liver-related events with a simple blood test.

siemens-healthineers.com/elf

The ELF test is not available for sale in the U.S. Product availability may vary from country to country and is subject to varying regulatory requirements. ELF is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics Inc. 30-19-14233-01-76 · © Siemens Healthcare Diagnostics Inc., 2020



Scan and
read more

Kolofon

DSKB-Nyt nr. 2/2022

Udgiver:

Dansk Selskab for Klinisk Biokemi

Ansvarshavende redaktør:

Stine Linding Andersen

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's bestyrelse

Mads Nybo

e-mail: mads.nybo@rsyd.dk

Eva Rabing Brix Petersen

e-mail: eva.rabing.brix.petersen@rsyd.dk

Cindy Søndersø Knudsen

e-mail: cindy.knudsen@aarhus.rm.dk

Fie Juhl Vojdeman

e-mail: fiv@regionsjaelland.dk

Pernille Just Vinholt

e-mail: pernille.vinholt@rsyd.dk

Ann-Britt Nygaard Hillig

e-mail: ann-britt.nygaard.hillig@regionh.dk

Stine Linding Andersen

e-mail: stine.a@rn.dk

Nyt fra Bestyrelsen



Stine Linding Andersen

Afdelingslæge

Klinisk Biokemisk Afdeling

Aalborg Universitetshospital

Foråret er her. Alt er frodigt og grønt, og coronaens skygge føles pludselig langt væk. Mulighederne for at samles fysisk til større møder og kongresser er igen til stede, og allerede i februar i år var det muligt for os i DSKB-Nyt redaktionsgruppe at mødes fysisk til redaktionsgruppemødet. Netop den dag var vejret langt fra forårsagtigt (se forsidebilledet), men humøret var højt, og med den rette påklædning blev også gåturen i flotte omgivelser gennemført.

Der har været udskiftning i redaktionsgruppen i dette år. Således har vi sagt farvel til Eva Rabing Brix Petersen, som har været redaktør for DSKB-Nyt fra 2017-2021. En stor tak skal lyde til Eva for den ihærdige indsats, energi og positive ånd i redaktionsarbejdet. Lene Rosenberg, afdelingslæge ved Klinisk Biokemisk Afsnit, Sydvestjysk Sygehus, er trådt ind i redaktionsgruppen som nyt medlem, og vi glæder os til samarbejdet.

I dette nummer af DSKB-Nyt bringer vi en artikel om svedtesten, som er skrevet i samarbejde mellem to Klinisk Biokemiske Afdelinger i Danmark. Ved de to afdelinger anvendes forskellig metode, og erfaringerne dermed beskrives. Derudover belyses problemstillingen om, hvorvidt svedtesten må gentages umiddelbart efter en mislykket test grundet pilokarpin-eksponering. Alle nyfødte i Danmark er siden 2016 undersøgt for cystisk fibrose som led i screeningsprogrammet for medfødte sygdomme (hælbloodprøven). Derudover anvendes svedtesten til diagnostik og monitorering, men produktionsstatistikken fra de to afdelinger viser, at det ikke er en hyppig analyse. I indlægget refererer forfatterne til CLSI guideline på området fra 2019, og deres indlæg fører til overvejelser om, hvorvidt

der i Danmark, og gerne i regi af DSKB, kunne skabes en national arbejds-/erfaringsgruppe, som ser på konsensus for valg af metode til svedtesten og de faldgruber og udfordringer, der kan være i forbindelse dermed. Muligheden for dette drøfter vi gerne i bestyrelsen, og generelt vil vi meget gerne have henvendelser om områder indenfor specialet, som kalder på en national retningslinje. Så meld endelig ind, hvis du/I har forslag til dette.

Vi bringer også i dette nummer af DSKB-Nyt en beskrivelse af nyt, revideret 'Diagnostisk pakkeforløb' for patienter med uspecifikke symptomer på alvorlig sygdom, der kan være kræft, og patienter med symptomer på metastasesuspekt forandring eller metastaser uden kendt primær tumor. Nete Hornung har været DSKB's repræsentant i denne arbejdsgruppe under Sundhedsstyrelsen. Som det fremgår af Netes indlæg, så har der været mange overvejelser og drøftelser vedrørende valg af biokemiske analyser i pakkeforløbet, men arbejdet er nu afsluttet, pakkeforløbet er publiceret, og implementeringen kan sætte i gang. I DSKB støtter vi op om dette og værdsætter det store arbejde, som arbejdsgruppen har lagt i at nå i mål. Vi opfordrer til, at anbefalingerne for valg af biokemiske analyser som led i pakkeforløbet implementeres ved alle Klinisk Biokemisk Afdelinger i Danmark, og at der lokalt sættes fokus på implementeringen både i almen praksis (trin 1) og på sygehuset (trin 2). Der skal fra DSKB lyde en opfordring til, at man koordinerer dette regionalt. En national koordinering ville have været optimalt, men implementeringen og tidspunktet for dette kan afhænge af flere forhold lokalt.

Hjælp vi flytter!

Erfaringer fra flytning til et nybygget hospital



Louise Lylloff
Afdelingslæge
Blodprøver og Biokemi
Regionshospitalet Gødstrup
louise.lylloff@goedstrup.rm.dk

Mette Fogh Møller
Biokemiker
Blodprøver og Biokemi
Regionshospitalet Gødstrup
mette.fogh.moeller@goedstrup.rm.dk

Søndag den 20. marts 2022 lukkede og slukkede Klinisk Biokemisk Afdeling (KBA) på Regionshospitalet Herning, og fem uger forinden var KBA på Regionshospitalet Holstebro lukket. Disse to begivenheder markerede afslutningen på fem års forberedelser og 10 måneder med drift på tre matrikler, men også overgangen til for første gang at være samlet på én og samme matrikel som Blodprøver og Biokemi på Regionshospitalet Gødstrup. Hospitalet er bygget som et 'barmarksprojekt' placeret 8 km fra Herning og har et optageområde med ca. 300.000 borgere.

Blodprøver og Biokemi skulle være klar til drift før de kliniske afdelinger kunne flytte ind i det nye hospital. Derfor blev udbudsprocessen omkring indkøb af nyt udstyr til et fuldautomatiseret laboratorium (analysehallen) på Gødstrup planlagt og gennemført i god tid. I 2017 blev der således nedsat en styregruppe for den nye analysehal med repræsentanter fra Region Midtjyllands afdeling for Indkøb og Medikoteknik, Hospitalsledelsen, Hospitalsbyggeriet, Driftsafdelingen samt KBA, og efter kontraktindgåelse også leverandør af totalløsningen til den nye analysehal. Den indkøbte løsning består af et Flexlab bånd fra Inpeco, Alinity kemi og immunkemi samt hæmatologi udstyr fra Abbott og ACL Top koagulationsudstyr fra ILS. Derudover er der tilkoblet Tosoh G11 og Phadia 250 udstyr.

Vejen til indflytning

Den oprindelige plan var, at analysehallen skulle stå færdigbygget i december 2019, og at hele hospitalet skulle være klar til indflytning i slutningen af 2020. I efteråret 2019 var vi således klar til at få leveret masterudstyr til validering, men på det tidspunkt var byggeriet langt fra klar. Beslutningen blev

derfor, at masterudstyret blev sat op på de eksisterende laboratorier i Herning og Holstebro. Fordelen ved det var, at udstyret stod der, hvor personale og prøver til validering var tilgængelige. Til gengæld betød det en nødvendig flytning af udstyret til Gødstrup efter endt validering.

Da vi nåede februar, var analysehallen så klar, at det var muligt at få leveret og installeret den samlede båndløsning, dog med store begrænsninger på forsyningsiden, da der endnu ikke var etableret permanent vand, strøm og tryk. Faktisk var analysehallen en ø i et byggeplads-hav og for overhovedet at komme dertil var det nødvendigt med et sikkerhedskursus samt brug af sikkerhedssko, hjelm og synlighedsvest. I marts kom COVID-19, som udfordrede alle aktører i projektet, men i september kunne masterudstyrene endelig flyttes fra Herning og Holstebro til Gødstrup og validering af den samlede løsning kunne påbegyndes, nu med en forventet driftsstart i marts 2021. Valideringsperioden i Gødstrup var en speciel oplevelse. Vi arbejdede i en (næsten) færdig analysehal, men var et af de få specialer, der havde sin gang i huset. Man var meget alene og mobiltelefonen blev en vigtig følgesvend, hvis man nu strandede et sted i byggeriet efter lukketid. Der var i laboratorieområdet endnu ikke etableret drikkevand, rengøring og affaldshåndtering, ligesom der heller ikke var kantine, uniformsforsyninger eller fuldt bemandet varemottagelse. Valideringsperioden var fortsat plaget af svigtende og endnu ikke permanente tekniske forsyninger (strøm, vand, tryk, ventilation og varme), hvilket var noget, som i øvrigt forfulgte os næsten helt frem til indflytningstidspunktet. På den anden side betød det, at vi blev rigtig gode



*Figur 1
Analysehallen set indefra og udefra på
installationstidspunktet.*

til at finde kreative løsninger i samarbejde med andre faggrupper (tømrer, ingeniører, stilladsfolk, bygningskonstruktører, elektrikere etc.), som vi var i næsten daglig kontakt med.

I starten af 2021 stod vi med analyseudstyr, som var klar til brug, kun for at erfare, at byggeriet blev yderligere forsinket, så indflytningen blev udskudt til september. Så var gode råd dyre. Vi havde valget mellem at holde udstyret kørende eller lukke det ned i en længere periode, hvilket vi helst ville undgå. Samtidig var de gamle analyseudstyr i Herning og Holstebro slidte og plagede af nedbrud efter godt 10 års drift. På den baggrund traf vi beslutning om at flytte analysering af praksisprøver til Gødstrup med udgangen af maj. På den måde kunne vi holde de nye udstyr i gang med reelle patientprøver og samtidig aflaste det gamle slidte udstyr i Herning og Holstebro. I denne proces skulle vi forholde os til de udfordringer, der kunne være ved at nogle analyser i en periode ville blive udført på forskellige platforme i Herning/Holstebro og i Gødstrup. Reelt havde vi kun enkelte

analyser med niveauforskelle af betydning, som det var nødvendigt at informere vores rekvirenter om.

Tripeldrift og sikring af personaleressourcer og kompetencer

Placeringen af det nye hospital på en bar mark 8 km fra Herning og 33 km fra Holstebro betød, at personalet, der udførte valideringsarbejdet, var væk fra 'egen matrikel' i hele dage, og at deres arbejdskraft og kompetence måtte undværes i Herning eller Holstebro. Arbejdsplanlægningen var også særligt udfordret i perioder med oplæring af basispersonale, hvor der jo både skulle afsættes basispersonale og superbrugere til oplæring i Gødstrup samtidig med, at vi skulle sikre tilstrækkelige kompetencer og personale til at opretholde driften i Herning og Holstebro.

Med beslutningen om at analysere praksisprøver i Gødstrup, skulle der findes en løsning, der kunne dække drift på tre matrikler med det eksisterende personale, men jo heldigvis kun for en kortere periode hen over sommeren – troede vi. Det skulle

*Figur 2
Der arbejdes under stillads i forbindelse
med udbedring af airconditionanlæg.*



grundet endnu en forsinkelse i byggeriet dog vise sig at blive en periode på 10 måneder.

Den forlængede periode med tripeldrift viste sig at blive en stor udfordring. Vi var, som alle andre i det danske sundhedsvæsen, presset på personaleressourcer og oplevede et opsving i antallet af akutte patienter, særligt i Herning, der havde det største akutindtag. Undervejs var vi tvunget til at flytte personaleressourcer fra Holstebro til Herning for at få arbejdsplanen til at hænge sammen. Ressourcerne kunne findes ved bl.a. at lukke ned for vores to immunkemi udstyr i Holstebro før tid, da det kunne spare tid (personale) til opstart, vedligehold og kvalitetssikring. Men kunne vi tillade os pludselig ikke at tilbyde f.eks. Troponin I som akutanalyse? Efter mange overvejelser og tæt dialog med Medicinsk Afdeling og Hjertesygdomme lukkede vi de to immunkemi udstyr i Holstebro og for at sikre rimelige svartider blev der i stedet etableret daglige transporter med faste intervaller fra Holstebro til Herning. Derudover var der personalerokeringen, som helst skulle foregå ad frivillighedens vej, hvilket heldig-

vis lykkedes. Dermed blev sammensmeltningen af personalet fra de to matrikler yderligere tyvstartet ud over det personale, der dagligt arbejdede sammen i Gødstrup til betjening af udstyrene der.

Hvad har vi lært?

- Vær forberedt på ændringer og forsinkelser, lav en plan B, og vid at også den kan ændre sig.
- Vær forberedt på udfordringer og begrænsninger i forsyninger og støttefunktioner.
- Hav en tæt dialog med byggeriet.
- Drift på flere matrikler kan blive nødvendigt i en længere periode end forventet.
- Sørg for tilstrækkeligt med personale og kompetencer til at dække driften alle steder.
- Brug dine kliniske kollegaer til sparring og dialog.
- Regn med at det tager længere tid end forventet.

Case:

Lakridsinduceret svær hypokalæmi

Klinisk problemstilling

En mand i midten af 40'erne kontaktede egen læge efter en længerevarende periode med utilpashed, og specielt de seneste par uger en underlig fornemmelse i hænder og ben samt indimellem svimmelhed, dyspnø og hjertebanken. Der blev taget blodprøver i almen praksis, som kom med henteordning til analysering ved Klinisk Biokemisk Afdeling. Bemærkelsesværdigt fandtes P-Kalium på $< 1,5$ mmol/L, således under detektionsgrænsen for den anvendte analysemetode. Laboratoriemæssigt fandtes ingen årsag til den lave værdi, og patienten blev samme aften indkaldt til akut vurdering. Ved ankomst i akutmodtagelsen blev der foretaget en arteriepunktur, som viste svært nedsat kalium på 1,8 mmol/L (3,5-4,6 mmol/L) samt forhøjet natrium på 149 mmol/L (137-145 mmol/L). Der blev ligeledes målt et forhøjet blodtryk på 194/102. Ved en udførlig anamnese fremkom det, at patienten havde haft et længerevarende stort indtag af lakridsslik, lakridste samt koffeinholdig sodavand. Patienten blev indlagt, og der blev igangsat behandling med kaliumklorid oralt samt glukose-kalium-infusion, hvilket resulterede i stigende kalium og faldende blodtryk. Patientens kaliumværdier og blodtryk samt kliniske symptomer normaliseredes i løbet af indlæggelsen, og der var således stærk mistanke om, at det drejede sig om lakridsinduceret svær hypokalæmi. Patienten fik råd vedrørende lakridsindtag samt plan for opfølgning hos egen læge med nye blodprøver, herunder renin/aldosteron-ratio, for at udelukke andre årsager til patientens hypokalæmi.

Baggrund

At længerevarende indtagelse af større mængder lakrids kan føre til hypertension og hypokalæmi er velbeskrevet i litteraturen, og det er en velkendt, men sjælden,

årsag til både hypertension og hypokalæmi. Det er stoffet glycyrrhizin i lakridsroden (*Glycyrrhiza glabra*), som hæmmer et enzym i nyretubuli, 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 2 (11 β -HSD2), der normalt mindsker den glukokortikoide aktivering af mineralkortikoidreceptoren ved at katalysere omdannelsen af kortisol til kortison. Hæmning af 11 β -HSD2 medfører øget stimulation af mineralkortikoidreceptoren med øget natriumabsorption og kaliumudskillelse, og dette benævnes ofte pseudohyperaldosteronisme [1-3].

Mængden af glycyrrhizin i forskellige lakridsprodukter varierer, og der er samtidig interindividuel variation, hvilket gør det vanskeligt at fastlægge en anbefalet maksimal indtagelse. Anbefalingen fra EU og The European Scientific Committee on Food er et maksimalt dagligt indtag på 100 mg glycyrrhizin, hvilket svarer til 50-60 gram lakridsslik (med koncentrationen 0,2% glycyrrhizin) eller 8 dl lakridste [1-3]. Man har dog set, at selv et relativt lavt dagligt indtag (50 gram) af lakrids i 14 dage kan forårsage en signifikant stigning af blodtrykket [1]. Det er i litteraturen også beskrevet, at koffeinholdig sodavand kan give hypokalæmi ved stort indtag [4], og dette kan have været en medvirkende årsag til hypokalæmi i denne case.

Behandlingen af patienter med lakridsinduceret hypokalæmi og hypertension er, udover ophør af lakridsindtag, midlertidig behandling med kaliumtilskud samt eventuelt kaliumbesparende diuretika [1-3]. Denne case understreger vigtigheden af en udførlig anamnese hos patienter med hypertension og hypokalæmi. Desuden illustrerer casen vigtigheden af, at vi i Klinisk Biokemi har kendskab til og fornemmelse for, hvilke ekstreme laboratorieværdier, som er forenelige med liv [5].



Jesper Strandberg
Læge i hoveduddannelse
Klinisk Biokemisk Afdeling
Aalborg Universitetshospital
j.strandberg@rn.dk

Referencer

1. Lundgren Nielsen, M, Pareek M, Andersen I. Lakridsinduceret hypertension og hypokalæmi. Ugeskrift for Læger. 2012;174:1024-1025.
2. Varma R, Ross CN. Liquorice: a root cause of secondary hypertension. JRSM Open. 2017;8:1-3.
3. Chehri S, Holmager P, Stender J, Friis-Hansen A. Pseudohyperaldosteronisme med svær hypokalæmi og fokale pareser udløst af lakridste. Ugeskrift for Læger. 2021;183:V10200737.
4. Tsimihodimos V, Kakaidi V, Elisaf M. Cola-induced hypokalaemia: pathophysiological mechanisms and clinical implications. Int J Clin Pract. 2009;63:900-902.
5. Janssens PMW, Pot Mw, Wouters M, van Leeuwen HJ, van Borren M. What extreme laboratory values can be obtained that (some) patients can survive with? Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. 2022;82:50-57.

Underdiagnosticeres blodprop i hjertet hos kvinder?

Det vil det nationale DANSPOT-studie forsøge at finde svar på



Nina Strandkjær
Læge, ph.d.-studerende
Afdeling for Hjertesygdomme og
Akutmodtagelsen
Herlev Hospital
nina.strandkjaer.01@regionh.dk



Søren Ladefoged
Overlæge
Blodprøver og Biokemi
Aarhus Universitetshospital
soerlade@rm.dk

DANSPOT (The Danish Study of Population and Sex-Specific Cutoffs of Troponin) er et stort anlagt studie med troponin som omdrejningspunkt, der netop er startet. Studiet udgår fra Afdeling for Hjertesygdomme og Akutmodtagelsen på Herlev Hospital, men vil efter planen involvere alle hospitaler i Danmark med lokale kardiologer og kliniske biokemikere som tovholdere. Studiets hovedhypotese er, at ikke-kønsopdelte grænseværdier for troponin medfører underdiagnosticering af myokardieinfarkt hos kvinder og overdiagnosticering hos mænd. Globalt set er hjertekarsygdom den hyppigste årsag til dødsfald blandt mænd og kvinder. Når en patient med brystsmerte modtages på hospitalet, bør myokardieinfarkt udelukkes akut. Stigning eller fald i P-Troponin med mindst én værdi over grænseværdien svarende til 99. percentilen for raske indgår som en væsentlig del af de diagnostiske kriterier for myokardieinfarkt. I dag anvendes samme grænseværdi for P-Troponin for både mænd og kvinder. Vi ved fra flere undersøgelser, at raske kvinder generelt har et lavere niveau af troponin end raske mænd. Anvendelsen af samme grænseværdi formodes derfor at medføre underdiagnosticering og underbehandling hos kvinder og tilsvarende overdiagnosticering og overbehandling hos mænd. Internationale kardiologiske selskaber anbefaler allerede anvendelsen af kønsspecifikke grænseværdier for P-Troponin. Den kliniske effekt af kønsspecifikke grænseværdier er imidlertid ikke velundersøgt og anvendes derfor endnu ikke i Danmark. DANSPOT studiet består af to dele. I første del fastlægges 99. percentilerne af troponin for raske kvinder og mænd i den danske befolkning på de troponin-metoder, der anvendes i Danmark. Denne del af studiet

er allerede gennemført. Anden del, som netop er startet per 1. april 2022, har til formål at evaluere den kliniske effekt af at indføre guideline-anbefalede kønsspecifikke grænseværdier for P-Troponin i Danmark. Studiets primære fokus er at evaluere om kønsspecifikke grænseværdier leder til bedre og mere præcis diagnostik, samt forbedrer behandling og prognose for kvinder med blodprop i hjertet.

Del 1: Fastlæggelse af 99. percentil for P-Troponin hos raske i Danmark

De 99. percentiler for raske, der anvendes som grænseværdi for troponin ved diagnostik af myokardieinfarkt, er afhængige af analysemetoden. Flere studier har endvidere vist, at grænseværdierne i betydelig grad afhænger af den valgte referencepopulation herunder specielt dens sammensætning mht. køn, alder og helbredstilstand. De grænseværdier, der aktuelt anvendes i Danmark, er alle fastlagt af IVD-producenterne med udgangspunkt i forskellige referencepopulationer. I DANSPOT-studiet ønsker man at anvende et fælles grundlag for grænseværdier for P-Troponin på tværs af analysemetoder med afsæt i en lokal dansk referencepopulation. Derfor er nuværende og tidligere donorer som en del af Danish Blood Donor Study blevet inviteret til at deltage som referencepersoner mhp. at fastlægge 99. percentiler for den danske befolkning. Fra 31. maj til 18. august 2021 fik 2.287 deltagere i alderen 18-88 år taget blodprøver. Af disse blev fire personer ekskluderet pga. anamnesticke oplysninger om hjertesygdom og syv pga. utilstrækkeligt prøvemateriale. Blodprøverne blev screenet for tegn på hjertesygdom, nyresygdom og diabetes ved måling af NT-ProBNP, kreatinin (eGFR) og HbA1c. I alt 951 deltagere

Tabel 1 Leverandørplyste 99. percentiler (p99) for P-Troponin sammenlignet med de nye percentiler fastlagt i DANSPOT.

	Cobas, Roche			Alinity, Abbott			Vista, Siemens			Atellica, Siemens		
	n	Alder ¹	p99	n	Alder ¹	p99	n	Alder ¹	p99	n	Alder ¹	p99
Leverandør												
Alle	533	20-71	14	1531	21-75	26	2021	22-91	59	2001	22-91	45
Kvinder	265	-	9	764	21-75	16	1017	-	54	1007	-	39
Mænd	268	-	16	766	21-73	34	1004	-	79	994	-	54
DANSPOT												
Alle	2262	18-88	16	2249	18-88	30	2252	18-88	121	2286	18-88	86
Kvinder	1195	18-88	11	1187	18-88	14	1191	18-88	55	1201	18-88	34
Mænd	1067	18-88	19	1062	18-88	47	1061	18-88	164	1085	18-88	121

¹Alder angivet som range (minimum-maximum).

blev ekskluderet, da en eller flere biomarkører lå uden for de på forhånd fastlagte grænser (NT-ProBNP: < 75 år: < 125 ng/L; ≥ 75 år: < 450 ng/L, eGFR > 90 ml/min/1.73 m² og HbA1c < 6.5%). Størstedelen blev ekskluderet pga. nedsat eGFR (n = 944). Den endelige referencepopulation bestod herefter af 720 kvinder og 605 mænd. Der anvendes seks forskellige højsensitive troponin-metoder i Danmark, hvor af de fire dækker langt størstedelen af de analyser, der udføres. Alle blodprøver blev analyseret med de fire metoder (Siemens Atellica high-sensitivity cardiac troponin I på Herlev-Gentofte Hospital; Siemens Dimension Vista high-sensitivity cardiac troponin I på Sjællands Universitetshospital; Roche Diagnostics Elecsys 2010 cardiac troponin T på Rigshospitalet; Abbott Alinity STAT high-sensitive troponin I på Sydvestjysk Sygehus). 99. percentiler blev herefter beregnet på basis af troponin-værdierne i den endelige kohorte (Tabel 1). Data er ved at blive sammenskrevet mhp. publikation.

Del 2: Cluster-randomiseret implementering af kønsopdelte grænseværdier

Denne del gennemføres som et landsdækkende cluster-randomiseret studie med et stepped-wedge design. Alle hospitaler (clusters) i Danmark randomiseres til et givet starttidspunkt. Med månedlige intervaller vil de nye kønsopdelte grænseværdier for troponin blive indført trinvis på ét hospital ad gangen (stepped-wedge). Med den step-vise implementering vil det blive muligt at sammenligne patienter med myokardieinfarkt før og efter ændringen. Alle patienter med troponin-målinger, der mistænkes for akut myokardieinfarkt i studieperioden, vil blive inkluderet. Patienter med troponin-

niveauer mellem de gamle og nye 99. percentiler vil blive analyseret separat og indgå i analysen af det primære endepunkt. Det primære endepunkt er sammensat af myokardieinfarkt, ikke planlagt revaskularisering efter den primære indlæggelse og all-cause mortalitet inden for et år. Herudover indgår en række sekundære endepunkter. På nuværende tidspunkt er der truffet aftaler med kontaktpersoner på alle 22 hospitaler inden for Klinisk Biokemi og Kardiologi. Alle hospitaler er randomiseret til en startdato i perioden april 2022 til januar 2024. Opstarten på det enkelte hospital vil blive planlagt i et samarbejde mellem DANSPOT-koordinatorer og kontaktpersonerne på de enkelte hospitaler. Alle patienter vil blive fulgt med data fra Landspatientregisteret, Dansk Hjerteregister og Lægemiddelstatistikregisteret op til et år efter indlæggelse.

Perspektiver

Resultaterne af studiet vil potentielt kunne ændre retningslinjerne for diagnosticering af blodprop i hjertet. Hypotesen bag studiet er, at kønsspecifikke grænseværdier for troponin vil sikre, at den rigtige gruppe patienter modtager den rigtige behandling. Resultaterne forventes at forbedre og præcisere diagnostikken af blodprop i hjertet og dermed sænke risikoen for underdiagnosticering og -behandling af kvinder, samt reducere antallet af mænd, der unødigt udredes og behandles for blodprop i hjertet. Dansk Cardiologisk Selskab og Dansk Selskab for Klinisk Biokemi støtter op om DANSPOT-studiet og opfordrer alle Klinisk Biokemiske Afdelinger samt Kardiologiske Afdelinger til at deltage i studiet.

Referencer

1. Mehta et al. Acute Myocardial Infarction in Women: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2016;133:916-947.
2. Apple et al. Determination of 19 cardiac troponin I and T assay 99th percentile values from a common presumably healthy population. *Clin Chem*. 2012;58:1574-1581.
3. Lee et al. Sex-Specific Thresholds of High-Sensitivity Troponin in Patients With Suspected Acute Coronary Syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2019;74:2032-2043.
4. Anand et al. Global Adoption of High-Sensitivity Cardiac Troponins and the Universal Definition of Myocardial Infarction. *Clin Chem*. 2019;65:484-489.
5. Wu et al. Clinical Laboratory Practice Recommendations for the Use of Cardiac Troponin in Acute Coronary Syndrome. *Clin Chem*. 2018;64:645-655.

Zink – er det en problematisk analyse?



Louise Helskov Jørgensen,
Biokemiker
Blodprøver og Biokemi
Odense Universitetshospital
louise.helskov.joergensen@rsyd.dk



Lennart Friis-Hansen
Overlæge
Biokemisk Afdeling
Bispebjerg Hospital
lennart.jan.friis-hansen@regionh.dk

Det forlyder, at zink (Zn) kan være en problematisk analyse at beskæftige sig med, men er den det?

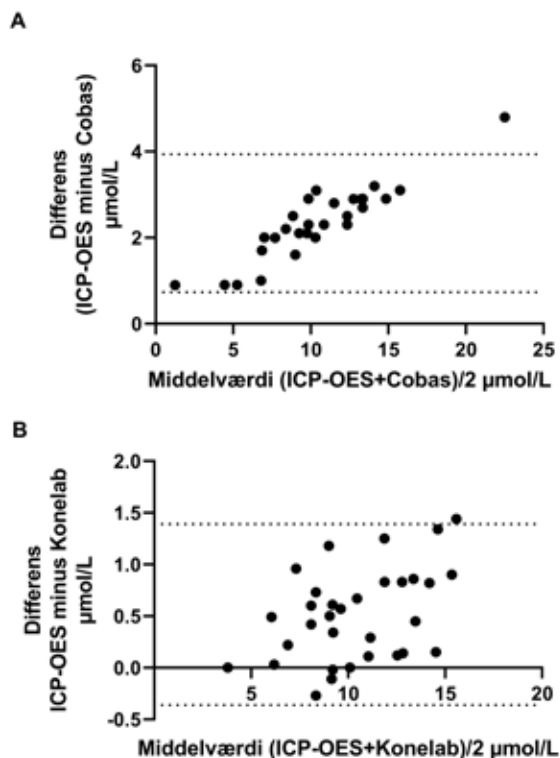
Analysemetoder anvendt i Danmark

Et godt sted at starte er at se på, hvordan Zn analyseres i Danmark. En rundspørge på de Klinisk Biokemiske Afdelinger viser, at der er stor forskel på valg af platform og overordnet findes to analyseprincipper. Det ene princip er en kolorimetrisk metode på automatiseret kemi-udstyr i åben kanal med tredjeparts-kits. Her anvendes kits fra henholdsvis Sentinel Diagnostics og BEN Biochemical Enterprise. Den kolorimetriske analyse er sat op på mange forskellige kemi-moduler i Danmark heriblandt Cobas 6000, Konelab 30i, Vista og Atellica CH930. I de anvendte assays udnyttes det, at både 5-Br-PAPS og Nitro-PAPS binder Zn-ioner med høj affinitet. Herved dannes Zn-5-Br-PAPS eller Zn-Nitro-PAPS komplekser, der absorberer ved en anden bølgelængde (hhv. 552-560 nm og 571-575 nm) end modersubstanserne. Farvereaktionen måles med absorptionsfotometri, og intensiteten af farvereaktionen er direkte proportionel med koncentrationen af Zn i prøven. For begge kemi-principper anvendes desuden en omregningsfaktor til at beregne prøvens aktuelle koncentration af Zn i $\mu\text{mol/L}$, og i nogle tilfælde er der suppleret med en korrektionsberegning. Det andet princip er inductively coupled plasma (ICP) kombineret med detektion enten ved massespektrometri (ICP-MS) eller optisk emission (ICP-OES). Her introduceres en prøve fortyndet i en buffer som en spray i en skyet dråbeform ind i en plasmakilde (argongas), som opvarmes til flere tusind grader Kelvin. Inde i plasmakilden ioniseres prøvematerialet og herunder de pågældende Zn-ioner. Ved ICP-OES udnyttes det, at specifikke ioner, her Zn, emitterer unikke bølge-

længder. Disse fokuseres ved hjælp af en monokromator og intensiteten måles af en detektor. Hvis der i stedet er tale om ICP-MS separeres ionerne efter ioniseringsfasen i argon-plasmaet, hvorefter de detekteres ved m/z . For begge detektionsmetoder anvendes en kalibrator til beregning af den målte Zn-koncentration, og der anvendes ingen omregningsfaktorer eller korrektionsberegninger.

Referenceintervaller

I Danmark udføres Zn-analysen langt overvejende med kemiudstyr, mens den kun enkelte steder i landet udføres med den mere avancerede ICP-metode. Når nu der anvendes forskellige målemetoder og udstyr, hvad så med referenceintervallet? Her anvendes det samme interval på 10-19 $\mu\text{mol/L}$ uanset platform. Men er det egentligt korrekt? For nylig publicerede vi et opdateret referenceinterval på 7,9 – 16,1 $\mu\text{mol/L}$ i serum bestemt med ICP-MS på 400 danske personer [1], hvilket bekræfter Grandjean et al's referenceinterval på 8,2-15,7 $\mu\text{mol/L}$ fra 1992 [2]. Vi har tidligere lavet forskellige sammenligninger laboratorierne i mellem. Af disse ses det, at der er forskel på kemi-metoderne og ICP-metoden (Figur 1). I de sammenligninger, som vi har foretaget, måler ICP-OES højere end kemi-metoderne udført på henholdsvis Cobas i 2017 (Figur 1A: middelforskel +24%) og Konelab i 2021 (Figur 1B: +4,8%). Det interessante er, at på begge kemiplatforme blev kittet fra Sentinel Diagnostics anvendt, hvilket indikerer, at det ikke kun er metoden, men også anvendt udstyr samt eventuelt korrektionsberegninger, som har en betydning. I sammenligningen med Cobas fandt vi, at i 10 ud af 34 prøver befandt Zn-koncentrationen sig under nedre referenceintervallgrænse med Cobas, mens resultatet for samme prøve var indenfor referenceintervallet med ICP-



Figur 1
Absolut differens af Zn-koncentration ($\mu\text{mol/L}$) målt med ICP-OES overfor Cobas (A) og med ICP-OES overfor Konelab (B). Begge kemi-analyser er udført med kittet fra Sentinel Diagnostics.

metoden. Derfor synes vi, at tiden er inde til at revurdere Zn-analysens referenceinterval. Vi mener generelt, vi bør undgå metode-specifikke referenceintervaller og foreslår, at brugere af kolometriske metoder undersøger om de korrektionsfaktorer, der anvendes i metoderne, er korrekte.

Klinisk anvendelse

Hvad bruges Zn i klinikken egentligt til, og er der andre faktorer end analysemetoden, der kan spille ind på resultatet? Zn-forgiftninger er sjældne, og derfor anvendes Zn-analysen primært til at vurdere, om en patient er i en mangeltilstand. Det vil sige, at det som udgangspunkt er vigtigt at kunne detektere Zn-koncentrationen præcist omkring nedre cut-off grænse. Mangel på Zn kan have forskellige årsager, men typisk er der tale om utilstrækkeligt optag (fejlernæring, malabsorptionstilstande) eller et stort tab (diarré, forbrænding, nyresygdom). Nedsatte værdier af zink er forbundet med inflammation, infektion, hudlæsioner/sår, hæmmet sårheling og kritisk sygdom. Hos børn kan Zn-mangel skyldes den sjældne genetisk betingede sygdom kongenit acro-

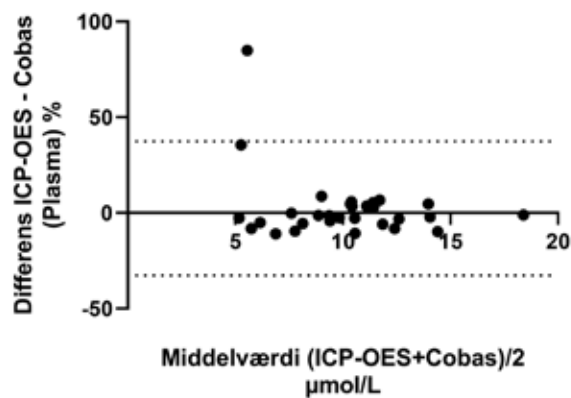
dermatitis enteropathica, men Zn-mangel kan også være skjult, og vil hos børn kunne ses som hæmmet vækst eller forsinket kønsmodning, hvor årsagen ikke er endokrinologisk betinget.

Ved udtalt mangel vil der ofte være hudsymptomer som dermatitis med bylder/pus, eller udslæt og eksem, hårtab/skaldethed, forsinket sårheling, depression og hyppige/gentagne infektioner. Zn-mangel er faktisk en af de mest signifikante sporstof-mangeltilstande globalt og er direkte forbundet med øget mortalitet pga. infektionssygdomme. Mangeltilstand hos både børn og voksne kan behandles med Zn-tilskud.

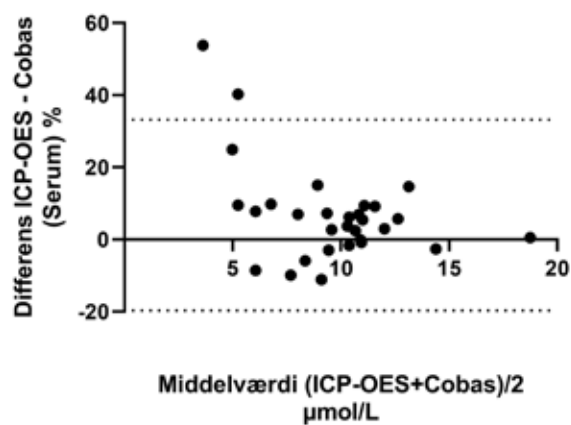
Andre overvejelser

Umiddelbart kan det virke simpelt at måle en ion som Zn, men ud over målemetode, beregninger og udstyr spiller flere andre faktorer ind. For det første så ændres zink-niveauet i løbet af døgnet med høje værdier om morgenen og lave sidst på eftermiddagen [3]. Desuden falder zink-koncentrationen lige efter et måltid, mens koncentrationen er forhøjet ved faste [4].

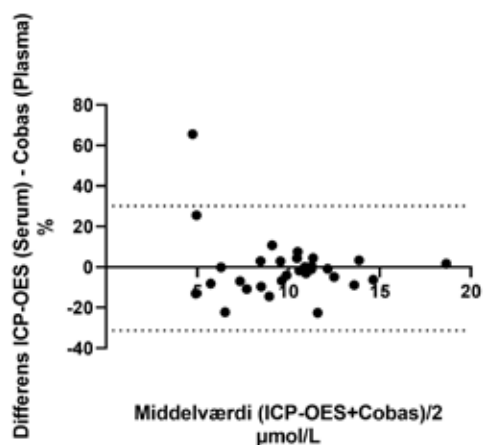
A



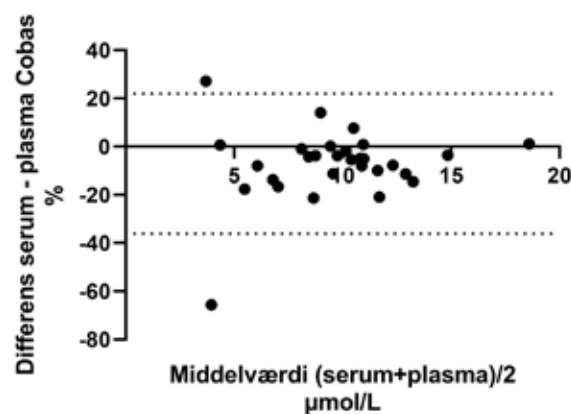
B



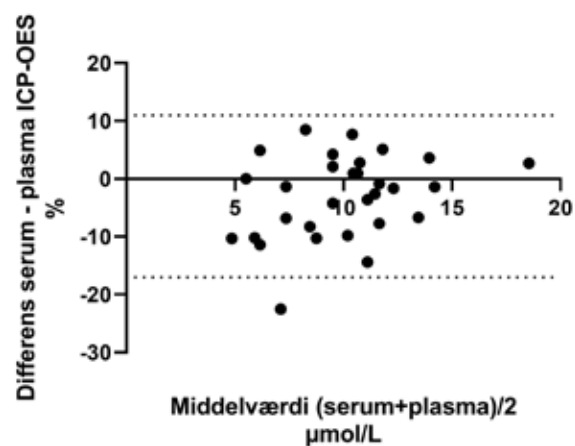
C



D



E



Figur 2

Procentvis differens af Zn-koncentration målt med ICP-OES overfor Cobas i plasma (A), med ICP-OES overfor Cobas i serum (B), med ICP-OES i serum overfor Cobas i plasma (C), med Cobas i hhv. plasma og serum (D), og med ICP-OES i hhv. plasma og serum (E).

Langt de fleste steder udføres Zn primært på ikke-fastende patienter og med prøvetagning døgnet rundt. En anden vigtig ting er, at Zn ikke befinder sig frit i kroppen. Kun 1-2% cirkulerer i blodet og er her bundet til specifikke transport proteiner; primært albumin, som binder omkring 80%, mens resten primært er bundet til alfa-2-makroglobulin [5]. Det kan derfor være nødvendigt at måle albumin for at vurdere, om der er tale om en reel Zn-mangel. Dette skyldes især, at ved lav koncentration af albumin vil koncentrationen af Zn ligeledes være lav, da der vil være mindre protein til stede til at binde og transportere Zn i blodet, men dette er således sekundært til lav albumin og ikke nødvendigvis ensbetydende med, at en patient har Zn-mangel. Ligeledes kan det være nødvendigt at måle serumkobber (Cu) koncentrationen, idet Cu vil være forhøjet sekundært til lav Zn. Dette skyldes, at Zn og Cu konkurrerer om de samme bindingssteder på metallothionein og dermed absorberes kompetitivt i tarmen. I forhold til korrekt bestemmelse af Zn har vi for nylig publiceret et studie, hvor vi ser på brugen af albumin-korrigeret Zn og Zn's frie bindingskapacitet som alternative (måske mere præcise) metoder til detektion af ægte Zn-mangel [6].

Præanalytisk er der også nogle forhold, som skal tages i betragtning. Koncentrationen af Zn er ca. 10 gange højere i de røde blodlegemer end i serum, så det er vigtigt, at der ikke måles på tydeligt hæmolyserede prøver. Der er faktisk også forskel på, hvorvidt Zn analyseres i serum eller plasma rundt i Danmark. Spørgsmålet er så, om det også kan have en betydning, eftersom der anvendes samme referenceinterval uanset prøvemateriale og metode. Her har vi lavet forskellige undersøgelser, hvor vi har målt på serum og plasma fra de samme patienter med hhv. Cobas og ICP-OES (Figur 2). Når der sammenlignes på prøvemateriale med hver metode, ses det, at der er en forskel på 7% for analyser udført med Cobas (Figur 2D), mens der er en forskel på 3% mellem serum og plasma med ICP (Figur 2E). Det kan desuden observeres, at når der måles

på plasma med ICP-OES sammenlignet med Cobas, så er forskellen mellem de to metoder mindre udtalt (Figur 2A: 2,4% bias), i forhold til når der måles i serum (Figur 1A: 24% bias, og Figur 2B: 6,7% bias). Endnu mere interessant er det, at når der måles på plasma med Cobas over for serum med ICP-OES, så er der ikke længere nogen betydelig forskel mellem metoderne (Figur 2C: 0,5% bias). Det lader derfor til, at den positive bias, der ses mellem kemimetoderne og ICP-metoden, kan 'udlignes' ved at anvende forskelligt prøvemateriale. Resultaterne indikerer samlet set, at prøvematerialet er betydende og skal med i overvejelserne, når man sætter en Zn-analyse op. Med ICP-OES har vi i Odense undersøgt, om man kan bruge lithium-heparin plasma i stedet for serum til prøvetagning på helt små børn, hvor man kun kan udtage meget lidt blod, og hvor der ofte skal foretages flere analyser på samme materiale. Med vores metode er der ingen forskel på at måle i serum og plasma (bias på 1%), heller ikke selvom plasmaprøverne har stået på gel i mere end 24 timer inden afpipettering (data ikke vist). Det er derfor vigtigt at undersøge sin matrix med egen metode og i forhold til et givet referenceinterval, hvis man skal sikre en korrekt måling af Zn.

Konklusion

Opsummerende er der en betydende forskel både på hvordan Zn måles og i hvilken matrix. Hvis man vil måle Zn i serum eller plasma skal man gøre sig en række overvejelser for at sikre sig, at man har overblik over den valgte metode og prøvemateriale-specifikke korrektionsfaktorer, således at resultaterne er korrekte i forhold til referenceintervallet. Har man gjort sig disse forhold klart, mener vi ikke, at bestemmelse af Zn kan betragtes som en problematisk analyse.

Referencer:

1. Jorgensen LH, Sindahl CH, Pedersen L, et al. Reference intervals for trace elements in the general Danish population and their dependence on serum proteins. *Scand J Clin Lab Invest.* 2021;81:523-531.
2. Grandjean P, Nielsen GD, Jorgensen PJ, et al. Reference intervals for trace elements in blood: significance of risk factors. *Scand J Clin Lab Invest.* 1992;52:321-337.
3. Couturier E, van Onderbergen A, Bosson D, et al. Circadian variations in plasma zinc and cortisol in man. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 1988;2:245-249.
4. King JC, Hambidge KM, Westcott JL, et al. Daily variation in plasma zinc concentrations in women fed meals at six-hour intervals. *J Nutr.* 1994;124:508-16.
5. Kiilerich S, Christiansen C. Distribution of serum zinc between albumin and alpha 2-macroglobulin in patients with different zinc metabolic disorders. *Clin Chim Acta.* 1986;154:1-6.
6. Jorgensen LH, Sørensen MD, Lauridsen MM, Rasmussen LM, Alfiler RM, Iversen VN, Schaffalitzky de Muckadell OB. Albumin-corrected Zn and available free Zn-binding capacity as indicators of Zn status – potential for clinical implementation. *Scand J Clin Lab Invest.* 2022; in press.

Ekstracellulære vesikler er cirkulerende cellulære biopsier og fremtidens diagnostiske biomarkører



Maiken Møllgaard
Seniorforsker

Klinisk Biokemisk Afdeling
Aalborg Universitetshospital

Rikke Wehner Rasmussen
Forskningsbioanalytiker
Klinisk Biokemisk Afdeling
Aalborg Universitetshospital

Anders Askeland
Ph.d.-studerende
Klinisk Biokemisk Afdeling
Aalborg Universitetshospital

Morten Hjuler Nielsen
Biokemiker
Klinisk Biokemisk Afdeling
Aalborg Universitetshospital

Aase Handberg
Overlæge, professor
Klinisk Biokemisk Afdeling
Aalborg Universitetshospital
aaha@rn.dk

Introduktion

Ekstracellulære vesikler (EV) er små membranindkapslede partikler, som udskilles fra celler til det ekstracellulære miljø, og som findes i en række kropsvæsker som blod, cerebrospinalvæske og urin. Udskillelse af EV er en højt konserveret egenskab, som også ses hos bakterier og planter, og som tidligere blev anset for at være en 'affaldsmekanisme', der sikrede, at celler kunne udskille uønskede intracellulære komponenter. I dag er billedet et helt andet. Man ved nu, at EV er højt specialiserede cellulært-deriverede partikler, der påvirker og regulerer andre cellers aktivitet og funktion. På den måde kan EV direkte påvirke mekanismer involveret i sygdomsudvikling og er derfor lovende kandidater som diagnostiske biomarkører.

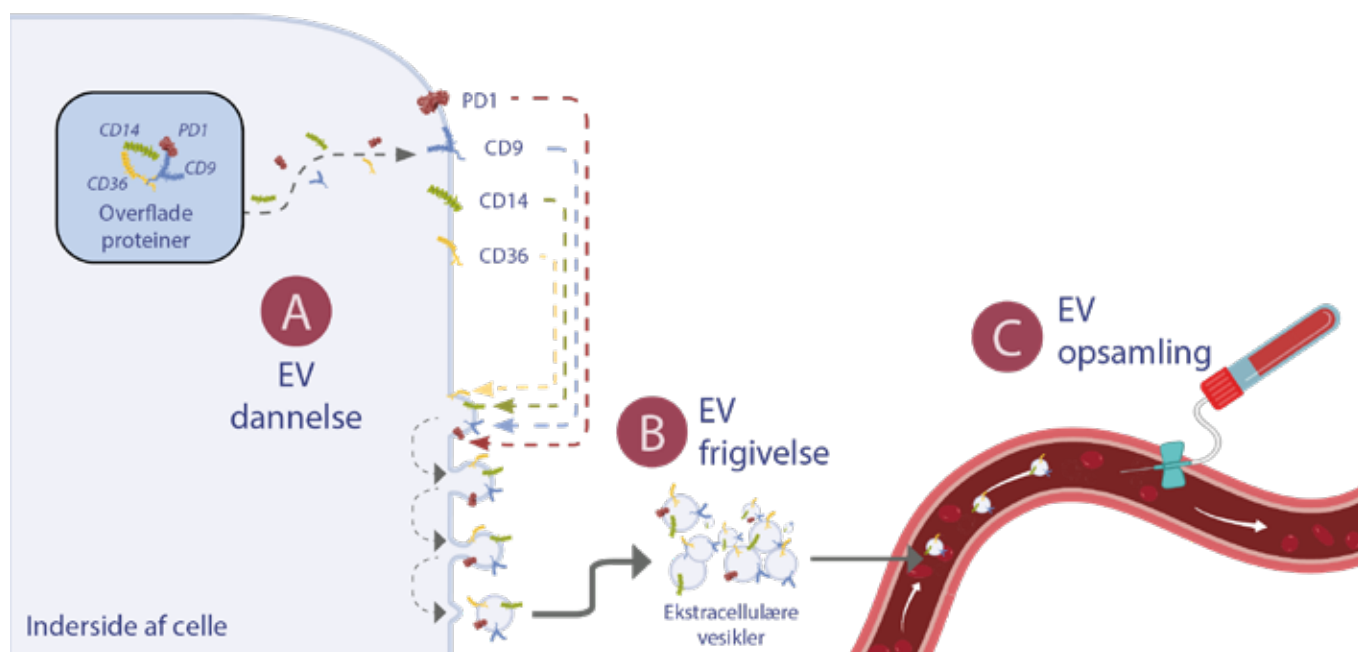
EV en meget heterogen samling af partikler, der spænder fra 30-1000 nm i størrelse.

De kan dannes og udskilles af stort set alle kroppens celler, både raske og syge, og i litteraturen er der hovedsageligt beskrevet tre typer defineret ud fra størrelse og dannelse. Mikrovesikler (100-1000 nm) dannes ved afsnøring fra cellemembranen, og frigives direkte til det ekstracellulære miljø (Figur 1), mens exosomer (30-100 nm) dannes ved afsnøring af den endosomale membran, og frigives når endosomerne fusionerer med cellemembranen. Den tredje type omfatter apoptotiske partikler, der er fragmenter fra døende celler. Den seneste forskning tyder på, at inddelingen af EV i disse tre undertyper er for simpel, og man har bl.a. i cancerforskning defineret en ny type, der kaldes oncosomer, som dannes fra cancerceller, og som varierer i både størrelse og dannelse. EV betegnes ofte som mikroskopiske biopsier af den celle, som de udskilles fra, fordi de indeholder en række komponenter herunder proteiner, RNA, DNA, metabolit-

ter og signaleringsmolekyler, der afspejler den oprindelige celledens identitet og tilstand. Det samme gælder EV-membranens opbygning og struktur, herunder diverse membranbundne proteiner (Figur 1A). Der er generel konsensus om, at EV er centrale i celle-til-celle kommunikation, idet de i det ekstracellulære miljø kan fusionere med specifikke modtagerceller og på den måde facilitere signalering til eller modellering af modtagercellerne. Fra cancerforskning er der en række dokumenterede eksempler på, at tumorceller kan kommunikere og fremme metastasering ved at 'dele' næringsstoffer (f.eks. fedtsyrer eller glukose) med hinanden, eller at tumorceller kan udskille EV, der blokerer immunforsvaret, hvormed cancercellerne frit kan sprede sig i kroppen [1,2].

Klinisk potentiale

Interessen for EV og deres anvendelse som biomarkører eller terapeutiske mål har været stærkt stigende siden starten af årtusindsskiftet. Forskning i EV og deres rolle i patologiske sammenhænge og processer er omfattende og koncentrerer sig blandt andet om metaboliske sygdomme herunder insulinresistens, diabetes, fedme, åreforkalkning, cancer og reproduktion samt neurologiske og immunologiske sygdomme. Det skyldes, foruden deres direkte indflydelse på sygdomsudvikling, at EV kan detekteres i de fleste kropsvæsker, og dermed er oplagte kandidater som nye diagnostiske markører for patofysiologiske processer. Udover det store diagnostiske potentiale i karakterisering af EV i blodplasma har der været stort fokus på deres terapeutiske potentiale. EV kan designes til at 1) bære toksiske komponenter eller microRNA (miRNA) og 2) interagere med specifikke celler, f.eks. cancerceller, og hæmme disses vækst og spredning ved at levere deres



toksiske eller regulerende intravesikulære indhold. Sidst men ikke mindst, er EV også interessante i vaccinedesign rettet mod en række forskellige infektionssygdomme herunder HIV og hepatitis [1,2].

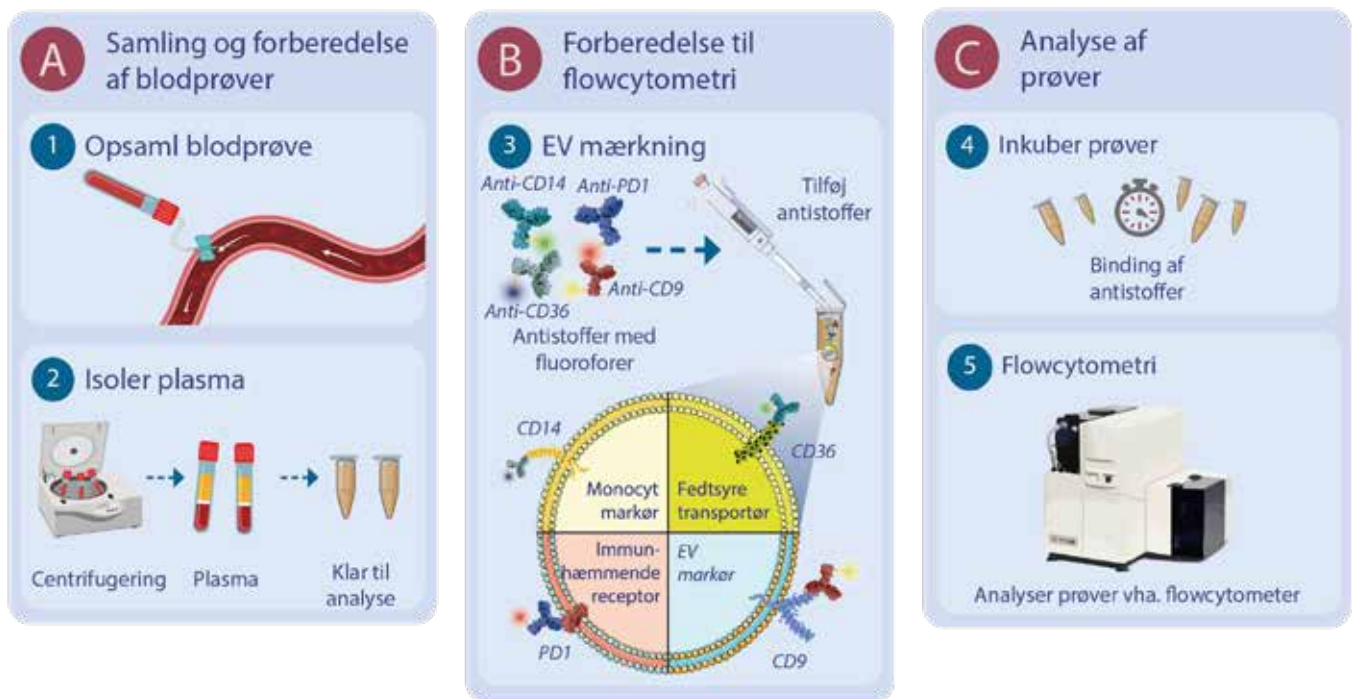
Metoder til karakterisering og kvantificering af EV

Meget forskning er rettet mod at udfolde det exceptionelle potentiale ved EV som diagnostiske biomarkører. I vores gruppe fokuserer vi overordnet på forskning i fedme og patofysiologien bag relaterede sygdomme. Specielt arbejder vi på at identificere og karakterisere nye EV-baserede biomarkører til tidlig diagnostik af fedmerelaterede komplikationer samt at opnå en dybere forståelse af EV og deres rolle i udviklingen af sådanne komplikationer. Sidstnævnte vil ikke blot øge vores grundlæggende viden om EV og deres sammenhæng med forskellige sygdomsbilleder, men også øge validiteten af EV som diagnostiske og terapeutiske redskaber.

Ved Aalborg Universitetshospital og Aalborg Universitet har vi gennem flere år haft

et samarbejde mellem flere forskningsgrupper samlet under EVsearch (www.EVsearch.dk). I vores gruppe anvender vi et specialiseret højsensitivt flowcytometer til analyse af EV (størrelse og fænotype), som er en af de mest avancerede, sensitive og specifikke metoder til EV-analyse. Vi kan med flowcytometri detektere og karakterisere individuelle EV i plasma helt ned til 80-100 nm i diameter bl.a. ved at analysere partiklers lysspredning. Ydermere kan vi med særligt indbyggede lasere og filtre analysere op til fire forskellige membranbundne overfladeproteiner på den samme EV-partikel (Figur 2). Hertil anvendes antistoffer konjugeret med forskellige fluorokromer, der aktiveres og afgiver signaler, som opfanges af flowcytometeret. Med vores metode kan vi i detaljer karakterisere og kvantificere EV fra en bestemt celletype direkte i plasma og yderligere bestemme tilstedeværelsen af patofysiologisk relevante membranproteiner på den samme EV-partikel (Figur 2). Vi har med denne metode tidligere kunne påvise og kvantificere EV i plasma fra muskelceller, monocytter, trombocytter, erythrocytter og endotelceller samt tilstedeværelsen af mem-

Figur 1. Dannelse, frigivelse og opsamling af ekstracellulære vesikler (EV). A) Mikrovesikler dannes og afsnøres fra overfladen af cellen, hvorved cellulære overfladeproteiner (her illustreret ved PD1, CD9, CD14 og CD36) inkorporeres i vesiklens membran og noget af cellens indhold overføres til vesiklen. B) EV frigives til blodbanen (det ekstracellulære miljø). C) Blodprøve med cirkulerende EV opsamles (helst fastende).



Figur 2 Fænotypisk karakteristik af ekstracellulære vesikler (EV) ved flowcytometri. Forud for analysering mærkes EV ved at plasma blandes med fluorescens-mærkede antistoffer. Op til fire forskellige antistoffer kan binde til hver partikel her illustreret ved CD9 (vesikel marker), CD14 (specifik for monocytter), CD36 (fedtsyre transporter opreguleret i fedme) og PD1 (immunhæmmende receptor opreguleret i cancer).

branproteiner af betydning for eksempelvis lipid akkumulation eller inflammation og oxidativt stress i de celler, som EV stammer fra. Vi var tilmed de første til at rapportere brugen af højsensitivitet flowcytometri til karakteristik af EV direkte i plasma prøver. Ydermere, har vores tidligere studier vist, at patienter med familær hyperkolesterolemie har øget antal af cirkulerende EV, som udtrykker fedtsyretransportøren CD36, og som stammer fra monocyt og endotelceller. Et andet studie viste, at gastric bypass reducerer antallet af cirkulerende monocyt- og endothel-derived EV, der udtrykker CD36.

Der er en række metodologiske udfordringer ved brugen af flowcytometri til EV-analyse, hvorfor vi har udført flere optimeringsstudier for at sikre optimale protokoller samt specificitet af vores målinger. Antistof-aggregater er en stor udfordring

og i et studie undersøgte vi, hvordan vi kunne mindske forekomsten af aggregater og dermed disses interferens med karakterisering af plasma EV. Den høje specificitet og direkte kvantificerbarhed ved højsensitiv flowcytometri er evident, men metoden er arbejd tung. Med state-of-the-art kontroller og forsøgs set-up er kapaciteten for analyse af plasmaprøver, der er mærket med fire antistoffer, fire til fem prøver på en dag efterfulgt af omfattende databearbejdning. I en anden forskningsgruppe under EVsearch anvendes EV-array, som er en mindre specifik metode, men med højere kapacitet. Metoden er bygget op som et multiplex array, hvor der printes antistoffer mod omkring 40 relevante membranproteiner i én brønd. Efter inkubation med plasma, anvendes antistoffer mod EV-markører til detektion. Resultatet angiver relativt hvor mange vesikler, der bærer hver af de undersøgte membranproteiner, men

altså ikke tilstedeværelsen af flere af disse på samme EV. Ydermere, råder EVsearch gruppen over apparatur til nanopartikel tracking analyse (NTA), som er en anden udbredt analysemetode i EV-forskning. Med denne metode kan man måle fordelingen af EV ud fra størrelse og stabilitet (overfladespænding). Denne metode er mindre arbejds- tung og supplerer de mere dybdegående analyser, men giver ingen oplysninger om EV-fænotypen.

Der er høje præanalytiske krav til plasma, der skal anvendes til EV-analyse, bl.a. på baggrund af størrelse og densitet af EV, der overlapper med en række andre komponenter herunder lipoproteiner og proteinkomplekser i plasma. I blodplasma findes der 107-109 EV/mL og ca. 1016 lipoproteiner/mL som dermed let kan interferere med kvantificering og karakterisering af EV, hvorfor prøver fra fastende personer foretrækkes. Et andet eksempel er, at trombocytter og andre blodceller er påvirkelige af forhold som stase og temperaturændringer efter blodprøvetagning, der kan føre til, at cellerne udskiller en stor mængde EV^[3-5].

Perspektiver

Vores videre forskning stræber mod at kunne karakterisere vævsspecifikke EV i plasma samt disses indflydelse på sygdomsudvikling. Herunder ønsker vi at identificere overfladeproteiner, der kun er udtrykt på overfladen af EV, der stammer fra et givent væv. Princippet er velkendt for celleanalyser, hvor eksempelvis CD14 er specifik for monocytter. Dernæst ønsker vi at undersøge den EV-medierede cellulære kommunikation ved at analysere det intravesikulære

indhold af miRNA, lipider, metabolitter og andre signalstoffer, som kan påvirke modtagercellen. Man ved fra cancerforskning, at immunforsvarets celler spiller en afgørende rolle i udvikling af cancer, og at immuncellernes funktion i høj grad styres af tilgængeligheden af næringsstoffer. Denne indsigt har givet ophav til et forskningsområde, der betegnes immunmetabolisme. Vi tror, at EV kan spille en afgørende rolle i immunmetabolisme og regulere immuncellers aktivitet via overførslen af næringsstoffer fra forskellige celletyper til immunforsvarets celler. Med tilbageblik på vævsbiopsiers indflydelse på diagnose og behandling af en række sygdomme, trods den invasive natur af denne metode, er det ikke svært at forestille sig potentialet af cirkulerende cellulære biopsier i blod og andre lettilgængelige kropsvæsker til screening af større patientgrupper. Derudover kan øget forståelse af rollen for EV i homøostase samt deres indflydelse på sygdomsudvikling muliggøre screening og tidlig identifikation af personer i risiko for at udvikle en række sygdomme. Der er ingen tvivl om, at EV har potentialet til at blive fremtidens diagnostiske redskab om end mere forskning, herunder metodeoptimering og standardisering, er nødvendig for at forstå sammenhængen mellem EV og sygdom og dermed udnytte det diagnostiske potentiale i fremtidig klinisk brug.

Referencer

1. Cheng L, Hill AF. Therapeutically harnessing extracellular vesicles. *Nat Rev Drug Discov.* 2022: in press.
2. Wiklander OPB, et al. Advances in therapeutic applications of extracellular vesicles. *Sci Transl Med.* 2019;11:eaav8521.
3. Rasmussen RW, et al. Zoom in on Antibody Aggregates: A Potential Pitfall in the Search of Rare EV Populations. *Biomedicines.* 2021;9:206.
4. Nielsen MH, et al. A flow cytometric method for characterization of circulating cell-derived microparticles in plasma. *J Extracell Vesicles.* 2014;3.
5. Botha J, et al. Bariatric surgery reduces CD36-bearing microvesicles of endothelial and monocyte origin. *Nutr Metab (Lond).* 2018;15:76.

Præanalytiske betragtninger for effektiv brug af cellefrit DNA fra en blodprøve til diagnostiske analyser

Mathias Rask-Pedersen (1)
Ingeniørstuderende
Molekylær Medicinsk Afdeling
Aarhus Universitetshospital

Sara Newell (2)
Bioanalytiker
Molekylær Medicinsk Afdeling
Aarhus Universitetshospital

Mads Heilskov Rasmussen (3)
Lektor
Molekylær Medicinsk Afdeling
Aarhus Universitetshospital

Amanda Frydendahl Boll Johansen (4)
Ph.d.-studerende
Molekylær Medicinsk Afdeling
Aarhus Universitetshospital

Mette Christiansen (5)
Funktionsleder
Molekylær Medicinsk Afdeling
Aarhus Universitetshospital

Claus Lindbjerg Andersen (6)
Professor
Molekylær Medicinsk Afdeling
Aarhus Universitetshospital

Thomas Reinert (7)
Klinisk Akademiker
Molekylær Medicinsk Afdeling
Aarhus Universitetshospital
thomas.reinert@clin.au.dk

Indledning

Ekstraktion af biomolekyler er én af de vigtigste laboratorietekniske processer inden for molekylærbiologien. DNA, RNA og proteiner kan isoleres fra biologisk materiale til brug ved klinisk diagnostiske analyser. Fra blodprøver og andre kropsvæsker kan man isolere cellefrit DNA (cfDNA), der kan benyttes som en genetisk realtidsmarkør i forbindelse med undersøgelser for kræftsygdom, transplanterede organer og fostervæv [1].

cfDNA er fragmenteret DNA på 75-220 basepar (bp), der cirkulerer rundt i blodbanen, typisk opbundet på nukleosomer. DNAet stammer fra celler i kroppen og frigives fortrinsvis ved apoptotiske eller nekrotiske processer i syge såvel som raske celler. cfDNA har en halveringstid på lidt under to timer, hvilket gør cfDNA-analyser velegnede til realtidsanalyser.

Ved at tage en prøve af eksempelvis blod, urin eller spinalvæske gives adgang til genetisk information, der ellers typisk ville kræve et invasivt indgreb i form af kirurgi, vævsbiopsier eller fostervandsprøver. Eftersom cfDNA har en halveringstid på ~2 timer, er det muligt at få et øjebliksbillede af patientens tilstand. Analyser af cfDNA er derfor også velegnede til at følge udviklingen af længerevarende sygdomsforløb eller til at observere behandlingsrespons.

Grundet en general lav koncentration af cfDNA i patientprøver er det essentielt, at oprensningen er så effektiv som mulig. Afhængigt af hvad der undersøges for, kan det

ved en lav oprensningseffektivitet risikeres, at afgørende genetisk information går tabt. I igangværende kliniske forskningsprojekter inden for tarmkræft [2], og blærekræft [3] undersøges der for minimal restsygdom hos tidligere kræftpatienter, og enkelte molekyler kan være bestemmende for, om en prøve vurderes som værende positiv eller negativ for kræft-DNA.

I takt med at cfDNA-analyser er blevet mere populære, er der kommet flere producenter af cfDNA-oprensningskits på markedet. Valgmulighederne har således aldrig været større. I denne artikel beskrives forskellige teknikker til ekstraktion af cfDNA fra plasma ved brug af kommercielt tilgængelige kits. Resultater og overvejelser er baseret på egne test af fem forskellige kits til oprensning af cfDNA fra plasma. Vi gennemgår en række af de kvalitetsparametre og overvejelser, som vi vil anbefale, at man tager i betragtning (Figur 1). En test af cfDNA-oprensningskit skal ikke alene bestemme effektiviteten og reproducerbarheden af det afprøvede kit, men også give et billede af kvaliteten af det oprensede cfDNA. Formålet med disse er at eksemplificere, hvorledes laboratorier eller forskningsgrupper kan udvælge det kit, der passer bedst til deres formål og laboratorieforhold.

Ekstraktionsteknikker

Der anvendes to forskellige teknikker til ekstraktion af cfDNA fra plasma. Den ene gør brug af en søjle med silica-baseret membran, og den anden gør brug af

silica-dækkede magnetiske beads. De fleste cfDNA-oprensningsskits benytter de samme fire trin. Først lyseres plasmaprøven for at frigøre cfDNAet fra nukleosomerne. I andet trin bindes cfDNAet til enten membran i en søjle eller magnetiske beads. I tredje trin vaskes søjler eller beads grundigt for at fjerne proteiner, salte og andre uønskede molekyler. I det fjerde og sidste trin frigøres det bundne DNA fra søjler eller beads med en elueringsbuffer. Traditionelt set er søjlebaserede oprensninger forbundet med bedre oprensningseffektivitet, end det der kan opnås med magnetiske beads [4]. Til gengæld er oprensninger baseret på magnetiske beads bedre egnede til opskalering og automatisering, som kan være relevante i high-throughput laboratorier og for større forskningsprojekter. I mange tilfælde vil valg af cfDNA-oprensningsskit derfor være en afvejning mellem kvalitet og kvantitet.

Forsøgsopstilling og kvalitetsparametre

Fem kommercielt tilgængelige cfDNA-oprensningsskits (Figur 2) blev udvalgt til afprøvning. Resultaterne fra de fem kits blev holdt op imod resultater opnået med QIAamp Circulation Nucleic Acid Kit (QIAGEN) (Q). QIAamp-kittet blev anvendt som referencekit pga. vores erfaringer med produktet samt dets mange år på markedet. Plasma til DNA-ekstraktionerne kom fra 24 anonymiserede raske donorer, og der blev anvendt parrede prøver på alle kits. I alt 8 mL plasma fra hver pool blev oprenset på alle kits inklusiv referencekittet. Efter oprensning gennemgik alle eluaterne

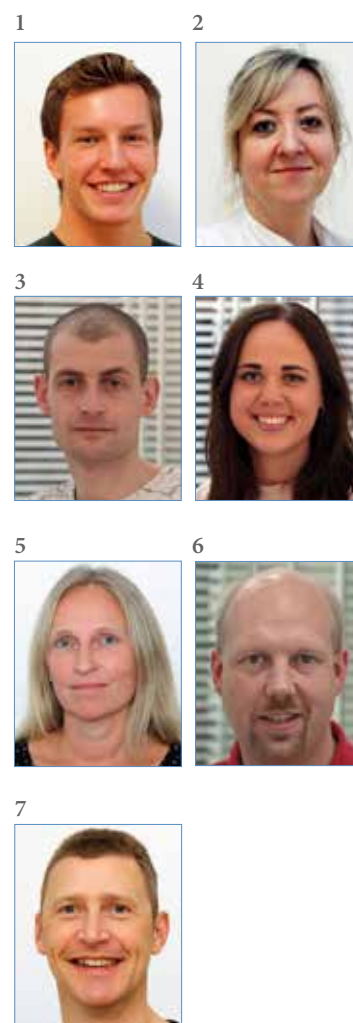
de samme kvalitetskontroller. Intentionen med de udvalgte kvalitetskontroller var at inkludere kvalitetsparametre, der har betydning for de metoder, der ofte anvendes til molekylære analyser.

cfDNA-udbytte

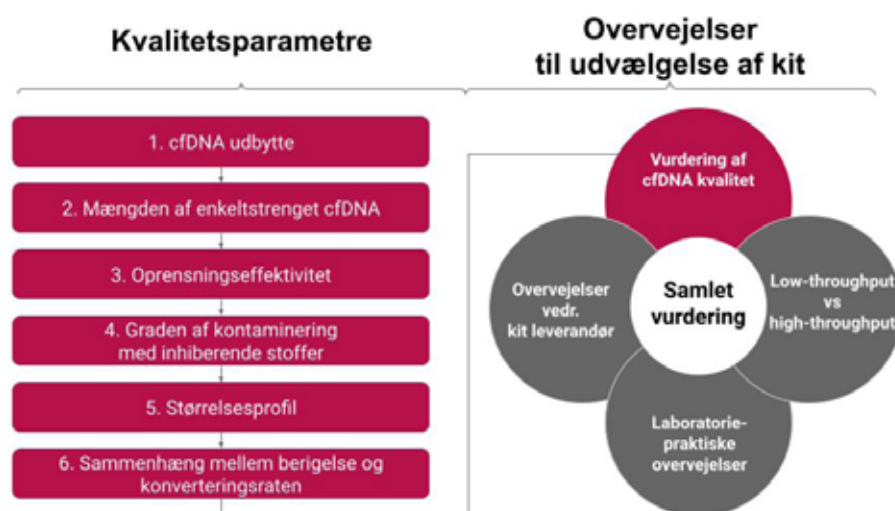
Den totale koncentration af cfDNA blev målt med droplet digital PCR (ddPCR) [5]. Det største totale udbytte af cfDNA blev målt i prøver oprenset med referencekittet (Q). Der observeredes ingen signifikant forskel i målt cfDNA-koncentration med de beadsbaserede kits fra A, O og P. Det mindste cfDNA-udbytte blev målt i prøver oprenset med det beadsbaserede kit fra C (Figur 3A). Disse målinger tager ikke hensyn til om cfDNAet er enkelt- eller dobbeltstrenget. Prøver med en høj grad af denaturering vil derfor give overestimerede cfDNA-udbytter. Koncentrationsmåling af ikke-denaturede prøver bør derfor ikke stå alene som mål for cfDNA-udbyttet.

Mængden af enkeltstrenget cfDNA

Under oprensning af cfDNA vil noget af prøven denaturere og gå fra dobbeltstrenget DNA (dsDNA) til enkeltstrenget DNA (ssDNA). Niveaue af dsDNA kan være afgørende for succesraten af især Next Generation Sequencing (NGS) baserede analyser, da mange af disse kræver dsDNA for at fungere. For mange laboratorier vil det derfor være optimalt at oprense cfDNA med et minimum af ssDNA. For at undersøge graden af denaturering i det oprensede cfDNA, blev 2 µL af de oprensede prøver



Figur 1
Workflow med kvalitetsparametre samt
beslutningsprocesser ved valg af kit til
cfDNA ekstraktion.



denatureret til ssDNA ved opvarmning til 95°C i ét minut. Herefter blev koncentrationen målt med ddPCR og sammenlignet med koncentrationen af ikke-denatureret DNA. Graden af denaturering i prøverne efter oprensning blev angivet som ratio mellem ssDNA og dsDNA (Figur 3A). Såfremt alt oprenset cfDNA er dsDNA, vil der ved denatureringstesten blive målt dobbelt så stor cfDNA-koncentration, og ratioen ssDNA/dsDNA vil være tæt på eller lig to. Det skyldes, at dsDNA deles i to strenge ved denaturering, og ddPCR-analysen måler begge.

Oprensningseffektivitet

For at kunne estimere hvor stor en del af den samlede cfDNA-mængde i plasmaprøven der reelt blev oprenset, blev oprensningseffektiviteten beregnet. Plasmaprøverne blev inden oprensning tilsat en kendt koncentration af dobbeltstrenget spike-in

DNA med en fragmentstørrelse svarende til cfDNA. Efter oprensning blev koncentrationen af spike-in DNA målt med ddPCR, hvorefter oprensningseffektiviteten blev beregnet. Ideelt vil oprensningskits med høj oprensningseffektivitet også have et tilsvarende højt udbytte af cfDNA. En oprensningseffektivitet på over 100% kan være et tegn på, at en del DNA er denatureret.

Kontaminering med inhiberende stoffer

Der kan være rester af ethanol i DNA-eluatet, som kan have negative effekter på dråbedannelsen ved ddPCR. Derforuden kan cfDNA-eluatet være forurenet med salte og/eller proteinase K fra lyseringstrinnet. Proteinase K-rester i eluatet kan negativt påvirke både ddPCR og mange NGS-protokoller, da resterne nedbryder protokollernes reaktionsenzymmer. Kontaminering med salte kan, ligesom ethanol, medføre reduceret dråbedannelse ved ddPCR og dermed



Figur 2
Oversigt over kit inkluderet i sammenligningen. QIAamp Circulation Nucleic Acid Kit; QIAGEN (Q), iCatcher Circulating cfDNA 4000 Kit; Catchgene (I), Apostle MiniMax™ High Efficiency Isolation Kit; Apostle Inc (A), Mag-Bind® cfDNA Kit; Omega Bio-tek (O), CMG-1304; PerkinElmer (P), Sera-Xtracta™ Cell-Free DNA Kit; Cytiva (C).

mindske antallet af undersøgte molekyler. Kilderne til forurening af eluatet er oftest ineffektive vasketrin under oprensningen, forkert affinitet mellem beads og proteiner under bindings- eller elueringsprocessen af cfDNA eller mangelfuld tørring af membran eller beads. Det er derfor vigtigt at undersøge for rester af inhiberende stoffer i cfDNA-eluatet. Alikvoter af oprenset cfDNA med PCR-supermix blev efterladt ved stuetemperatur i seks timer inden ddPCR-analyse. Der blev ikke observeret dråbe- eller enzyminhiberende stoffer i nogen af de testede kits.

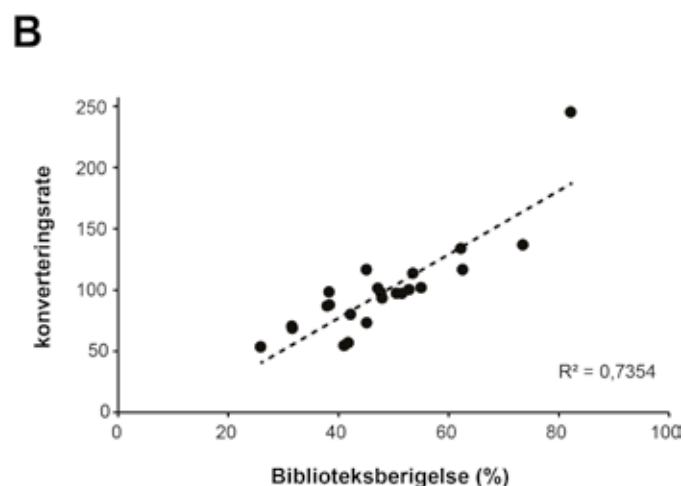
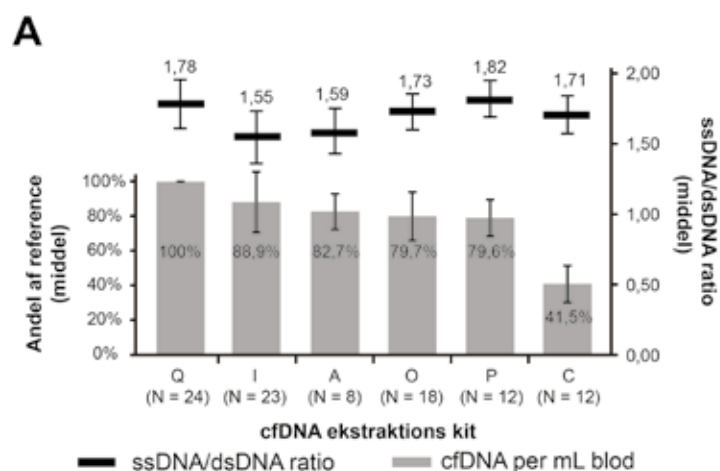
Størrelsesprofil

Til undersøgelse af fragmentstørrelser i de oprensede prøver blev størrelsesprofiler dannet ved brug af gelelektroforese (Agilent TapeStation 4200). Analysens primære formål er at verificere størrelsesprofilen af cfDNA i de oprensede prøver. Der kigges

efter en bimodal profil med toppe omkring 170 bp og 340 bp. Størrelsesprofiler fra de forskellige oprensningskits bør have samme profil af disse korte fragmenter. Derudover blev det undersøgt, om der skulle være oprenset højmolekylære fragmenter fra genomisk DNA sammen med cfDNA'et. Ved ideel blodprøvehåndtering vil der kun være minimalt højmolekylært DNA i plasma-prøven.

Sammenhæng mellem berigelse og konverteringsrate

For at vurdere kittenes evne til at oprense cfDNA, der kan anvendes til NGS, monitorerer vi forholdet mellem den mængde cfDNA, vi tilfører NGS-biblioteksreaktionen, og den mængde NGS-bibliotek, som dannes. Vi kalder det forhold NGS-berigelsen. NGS-berigelsen kan bruges som en simpel sammenligning af oprensningskittets evne til at oprense anvendeligt cfDNA.



Figur 3 cfDNA-kvalitetsparametre.

A) Søjlerne viser cfDNA-udbyttet normaliseret til QIAamp-kittet (QIAGEN) for de testede kit.

Standardafvigelsen er beregnet på normaliserede værdier. På 2. akse er ratioen mellem enkeltstrenget og dobbeltstrenget DNA (ssDNA/dsDNA) angivet for de testede kit.

B) Sammenhængen mellem biblioteksberigelse og konverteringsrate baseret på tidligere ekstraktioner med QIAamp-kittet.

Den endelige test for kvaliteten af cfDNA til NGS-baserede protokoller er beregning af konverteringsraten, der fortæller noget om, hvor stor en andel af cfDNA'et i en given prøve, der ender med at være blevet sekventeret. Da sekventering er en omkostningsfuld metode, har vi her begrænset dens anvendelse til cfDNA ekstraheret med QIAamp-kittet (Figur 3B). Grundet den ofte tætte sammenhæng mellem berigelse og konverteringsrate vil det typisk ikke give mening at sekventere prøver med lav berigelse.

Konklusion

Vi har i denne artikel beskrevet en række kvalitetsparametre og overvejelser, som bør indgå ved valg af kit til cfDNA-ekstraktion samt præsenteret resultater fra ekstraktio-

ner med seks kommercielle kits. QIAamp-kittet skiller sig ud som det kit, der har det højeste niveau af cfDNA samt den næsthøjeste ssDNA/dsDNA ratio. Er automatisering eller high-throughput derimod vigtige parametre, vil kittene fra Apostle Inc, Omega Bio-tek eller PerkinElmer alle være kits, som det vil give god mening at tage i betragtning. Ud over de beskrevne kvalitetsparametre, bør parametre som hands-on-time per prøve, en god forsøgsprotokol, teknisk ekspertise og mulighed for support også indgå i overvejelserne ved valg af kit til oprensning af cfDNA. Udvælgelsen af det mest optimale ekstraktionskit til cfDNA vil afhænge af hvert laboratories individuelle behov.

Referencer

1. Ranucci, R. Cell-Free DNA: Applications in Different Diseases, in Cell-free DNA as Diagnostic Markers: Methods and Protocols, 2019, Springer New York, side 3-12.
2. Nors J, Henriksen TV, Gotschalck KA, Juul T, Sogaard J, Iversen HL, et al. IMPROVE-IT2: implementing noninvasive circulating tumor DNA analysis to optimize the operative and postoperative treatment for patients with colorectal cancer - intervention trial 2. Study protocol. Acta Oncologica. 2020;59:336–341.
3. Treatment Of Metastatic Bladder Cancer at the Time Of Biochemical reLapse Following Radical Cystectomy (TOMBOLA). 2020; clinicaltrials.gov: NCT04138628.
4. Diefenbach RJ, Lee J.H., Kefford RF, Rizos H. Evaluation of commercial kits for purification of circulating free DNA. Cancer Genet. 2018;228-229:21–27.
5. Schøler LV, Reinert T, Orntoft MW, Kassentoft CG, Arnadottir SS, Vang S, et al. Clinical Implications of Monitoring Circulating Tumor DNA in Patients with Colorectal Cancer. Clin Cancer Res. 2017;23:5437–5445.



TOSOH



HbA_{1c} solutions for all

Small, medium, or large –
or somewhere in between?
Regardless of your lab size or
sample volumes, we can meet
your HbA_{1c} analysis needs.

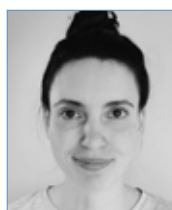
Discover how at
www.sysmex.dk/hba1c

TOSOH HLC-723 G11 Analyser is manufactured by Tosoh Corporation (Japan) - www.tosohbioscience.eu



YLKB-siden:

Hoveduddannelseskurser - tid til en opdatering?



Eline Sandvig Andersen
Læge i hoveduddannelse
Biokemi og Immunologi
Sygehus Lillebælt
Eline.Sandvig.Andersen@rsyd.dk

Hoveduddannelse i Klinisk Biokemi omfatter 9 obligatoriske kurser (Tabel 1). Kurserne er altid en god og hyggelig oplevelse, og det er tydeligt, at kursuslederne gør sig umage for at sammensætte et program med dygtige forelæsere. Desværre oplever jeg også hver gang, at jeg kun få uger efter kurset må spørge mig selv, hvad jeg rent faktisk kan huske fra det netop overståede kursus. Alt for ofte er konklusionen, at det er minimalt, hvad jeg har taget med mig videre. Det har vist sig, at jeg ikke står alene med denne oplevelse. Jeg har derfor tænkt over, hvordan kursusrækken kunne opdateres, så udbyttet blev større.

I min optik har kurserne to vigtige formål. Det ene formål er at introducere de uddannelsessøgende læger for hinanden såvel som for speciallæger og kemikere til gavn for arbejdsglæden og samarbejdet inden for specialet. Det andet formål er at give konkret faglig viden og værktøjer, som kan bruges i det daglige arbejde i specialet.

Med tanke på disse formål mener jeg, at det er muligt at forbedre udbyttet af kurserne markant ved at kigge kritisk på især to aspekter. Det ene aspekt er kursernes faglige omfang og fokus. Det er på tre dage naturligvis ikke muligt at lære alt om f.eks. endokrinologi, hæmatologi eller onkologi. En prioritering af stoffet er derfor nødvendig og efter min mening, så bør der prioriteres hårdere. Kursernes fokus bør lægges på få og konkrete kompetencer, som deltagerne kan gå hjem og bruge. Man kunne lade sig inspirere af andre specialer, f.eks. klinisk farmakologi, hvor man også har berøring med mange andre specialer, men hvor man i kursusrækken fokuserer på egne kernekompetencer frem for bredere gennemgange af nabospecialer (Tabel 1). Det andet aspekt er kursusformen. Den alt dominerende undervisningsform på kurserne er forelæsninger og nogle gange op til 10 forelæsninger på en dag. Efter min mening er dette u hensigtsmæssigt i forhold til at

Tabel 1 Aktuelle hoveduddannelseskurser i hhv. Klinisk Biokemi og Klinisk Farmakologi.

Klinisk Biokemi [3]	Klinisk Farmakologi [4]
Klinisk biokemisk farmakologi og toksikologi	Farmakokinetik og TDM
Projektledelse og metodevalidering	Elimination af lægemidler og farmakogenomik
Endokrinologi	Farmakoøkonomi
Molekylærbiologi	Farmakodynamik
Nordisk kursus	Farmakoepidemiologi
Onkologi	Lægemiddelbivirkninger og forgiftninger
Forskning	Lægemiddeludvikling og administrativ farmakologi
Koagulation	Evidensbaseret farmakoterapi
Hæmatologi	Farmakoterapi til risikogrupper
	Undervisningsmetoder og -pædagogik i Klinisk Farmakologi

Tabel 2 Illustration af fiktivt kursus med titlen 'Immunassays og interferens i praksis' med omtalen 'Få kendskab til de hyppigste/vigtigste immunassays og grundig indøvelse i udredning af interferens i praksis. Så du er klar, når vagttelefonen ringer!'

Tidspunkt	Aktivitet	Beskrivelse	Formål
Før kursus	Indspillet forelæsning	Basale koncepter i immunassays (45 min).	Sørger for at alle har de basale koncepter på plads før kursus.
Kursusdag 1	Velkomst	Navnerunde.	Overblik over deltagere.
Formiddag	Introduktion	Kort opsamling på indspillet forelæsning. Introduktion til fremgangsmåde ved udredning af interferens og udlevering af flowchart. Introduktion til gruppearbejde.	Mulighed for spørgsmål til indspillet forelæsning. Grundlæggende framework til håndtering af cases.
Eftermiddag	Gruppearbejde: intro	Mindre grupper på f.eks. 6 personer (læger og kemikere blandet). Navnerunde i gruppen.	Icebreaker. Deltagerne lærer hinanden lidt at kende.
	Gruppearbejde: interaktiv case	Facilitator (underviser) 'ringer' til én i gruppen med et spørgsmål (casen). Samtalen føres som i virkeligheden med mulighed for uddybende spørgsmål og svar. Herefter foretager gruppen 'research', som de ville gøre det i virkeligheden dvs. gerne med brug af f.eks. laboratorievejledninger og Lægehåndbogen. Såfremt man ønsker at foretage fortyndingsforsøg, siger man dette til facilitator, som så udleverer svar. Ønsker man at spørge en bioanalytiker om noget, spiller facilitator også denne rolle. Når gruppen er tilfreds med deres udredning, 'ringer' de til facilitator med svar.	Gruppen lærer 'legen' at kende og får mulighed for at arbejde efter udleveret flowchart. Denne første case er forholdsvis ligetil og tager ikke lang tid.
	Gruppearbejde: opsamling	Alle grupper samles. Facilitatorerne samler op på seancen med spørgsmål, som passer til casen og dens pointer. F.eks. 'Hvor mange grupper startede med at kigge på øvrig biokemi?' 'Hvor mange lavede fortyndingsforsøg?' 'Hvor mange kom frem til, at der var interferens?'	Mulighed for at lære af de andre grupper. Diskussion af f.eks. 'Hvor langt skal man gå i udredningen?' 'Hvad skal man starte med og hvorfor?'
Kursusdag 2	Skiftevis: Forelæsninger + gruppearbejde + opsamling	Forelæsninger: specifikke emner f.eks. hvornår mistænkes interferens, makroformer, interfererende antistoffer, tolkning af udvalgte analyser og døgnvariation. Gruppearbejde: Hver gang ny case med stigende kompleksitet og omhandlende forskellige analyser, f.eks. også prøveforbytning, graviditet, og bestemt 'interfererede' diagnose.	Mulighed for i praksis at anvende flowchart og blive fortrolig med arbejdsgangen. Kommer igennem de hyppigste og vigtigste situationer og analyser. Mulighed for cases udenfor flowchart f.eks. analysetolkning.

opnå både sociale og faglige målsætninger. Dels er forelæsninger dårligt egnede til at skabe social interaktion mellem deltagere, og dels er forelæsninger som udgangspunkt forholdsvis lidt aktiverende og inddragende. Dette er uheldigt, da aktiverende læringsmetoder giver bedre læringsudbytte^[1]. Jeg mener i denne henseende, at vi kan tage ved lære af de akutmedicinske hoveduddannelseskurser. Her er der fokus på 'hands-on' træning med f.eks. HLR-simulationstræning og praktiske ultralydskurser, som deltagere kan gå hjem og bruge i deres daglige arbejde straks derefter. Også fra biokemien er der inspiration at hente, hvor f.eks. 'Helene-kurset' i høj grad er bygget op om diskussioner, rollespil, gruppearbejde og sociale aktiviteter, imens 'Finse-kurset' udmunder i en videnskabelig artikel.

Det er et privilegie at få lov til at bruge arbejdstimer på at dygtiggøre sig, og det bør vi søge at udnytte til fulde. Set med mine øjne er det muligt at løfte udbyttene for kurserne betragteligt, både socialt og fagligt, men det vil kræve en målrettet indsats og en benhård prioritering. Jeg håber, at dette indlæg og illustration af fiktivt kursus (Tabel 2) med fokus på deltageraktivering^[2] og sociale fællesskaber kan starte en debat om, hvorvidt og hvordan hoveduddannelseskurserne bør opdateres. Jeg ville sætte stor pris på feedback og kommentarer fra alle faggrupper i specialet.

Referencer

- Freeman S, Eddy SL, McDonough M, Smith MK, Okoroafor N, Jordt H, et al. Active learning increases student performance in science, engineering, and mathematics. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111:8410-8415.
- Sivarajah RT, Curci NE, Johnson EM, Lam DL, Lee JT, Richardson ML. A Review of Innovative Teaching Methods. *Acad Radiol*. 2019;26:101-113.
- Speciallægeuddannelse: <https://dskb.dk/spec-laegeudd/> Tilgået 10. april 2022
- Undervisningskurser: <https://kliniskfarmakologi.dk/undervisningskurser> Tilgået 10. april 2022.

Nyt 'Diagnostisk pakkeforløb' for patienter med uspecifikke symptomer på alvorlig sygdom, der kan være kræft, og patienter med symptomer på metastasesuspekt forandring eller metastaser uden kendt primær tumor



Nete Hornung
Cheflæge
Blodprøver og Biokemi
Regionshospitalet Gødstrup
nete.hornung@goedstrup.rm.dk

'Pakkeforløb for kræft' startede i 2008 med gennemgående revision af pakkeforløbene i forbindelse med Kræftplan III nogle år efter. For tre år siden blev der så igangsat en revision af de to pakkeforløb angivet i overskriften og i den forbindelse skulle 'Diagnostisk pakkeforløb for patienter med uspecifikke symptomer på alvorlig sygdom, der kunne være kræft' (Diagnostisk pakkeforløb) sammenlægges med 'Pakkeforløb for metastaser uden organspecifik kræfttype'. Tanken var, at sammenlægningen skulle give et pakkeforløb, der i form ligner diagnostisk pakkeforløb, men også at sammenlægningen skulle skabe en fælles indgang til udredningsenhederne for patientgrupper, der lever op til kriterier i begge pakkeforløb. Til det formål nedsatte Sundhedsstyrelsen (SST) en arbejdsgruppe, hvor undertegnede blev udpeget af DSKB til at deltage.

SST nedsætter typisk en arbejdsgruppe med henblik på at få rådgivning, hvorefter SST beslutter en retningslinje på basis af arbejdsgruppens produkt. Dette var også tilfældet her jævnfør kommissoriet: *'Arbejdsgruppen skal rådgive Sundhedsstyrelsen ved revisionen af pakkeforløbet og bidrage til revisionen igennem f.eks. præsentationer på arbejdsgruppemøder, udarbejde bidrag til udkastet og kommentere på det samlede udkast. Sundhedsstyrelsen forventer, at man som deltager i arbejdsgruppen bærer ansvaret for løbende at orientere og forhøre sig, samt hente mandat til gruppens arbejde fra den aktør, man repræsenterer.'*

Tidsplanen for revisionen blev selvfølgelig, som så meget andet, væsentlig forlænget grundet COVID-pandemien. Men i januar 2022 blev det reviderede pakkeforløb endelig publiceret med to års forsinkelse og kan findes her: <https://www.sst.dk/da/Udgivelser/2022/Diagnostisk-pakkeforloeb>

I forløbet skulle forskellige specialers repræsentanter fremlægge specialets indspil til revisionen. I forbindelse med biokemisk præsentation blev et oplæg rundsendt i specialet forud for præsentation i arbejdsgruppen. De problemstillinger, der især blev drøftet i specialet var: Er både P-Basisk fosfatase og P-Laktatdehydrogenase nødvendig? Bør anæmiudredning være dynamisk eller ikke dynamisk? Skal M-Komponent og frie lette kæder rekvireres i praksis eller på hospital? Skal F-Hb være tilgængelig? Skal P-Ferritin indgå, selvom der ikke er anæmi? Har urinstix nogen berettigelse?

Der var forskellige holdninger i specialet til ovenstående spørgsmål, og der var en del kommunikation, især om hvorvidt M-Komponent og frie lette kæder hører hjemme i praksis, eller om rekvisitionen af analyserne har en bedre plads, når patienterne først er henvist til hospitalerne. Et argument for at beholde analyserne i praksis var de nogle gange lange svartider, mens et argument for at placere rekvisition af analyserne på hospitalerne var, at man her er bedre i stand til at fortolke resultaterne. Derudover er der måske også et sundhedsøkonomisk aspekt, men det er ikke kendt. For F-Hb blev der også fremført forskellige synspunkter i specialet, men der var overvejende bred enighed om at lade analysen indgå som en mulighed for praktiserende læger i indgangen til pakkeforløbet. Et kriterie for anvendelse af analysen er, at den begrænses til borgere med ikke alarmsymptomer/vage symptomer og som IKKE har symptomer på kolorektal cancer, der ellers burde henvises i et specifikt kræftpakkeforløb. Cut-off er $\geq 50 \mu\text{g/L}$ sammenlignet med cut-off for screening, som er $\geq 100 \mu\text{g/L}$. Denne blev skrevet ind i pakkeforløbet som en mulighed for praktiserende læger, men er ikke med på minimumslisten. Det specificeres også i pakkeforløbet, at den ikke

Hæmatologi	Første trin – dynamisk anæmi-udredning: • B-Hæmoglobin (Hb) • Erc(B) – Hæmoglobinindhold (MCH) • Erc(B) – Erytrocyt fordelingsbredde (RDW) • Erc(B) – Erytrocyt Middel (MCV) • Erc(B) – Hæmoglobin (MCHC) • B-Erytrocytter (EVF) • B-Trombocyter • B-Leukocyter • B-Leukocyttyper • B-Retikulocyter • Ferritin; P	Andet trin – afhængig af resultaterne af først trin bør følgende analyser indgå: • Cobalamin; P • Folat; P • Jern; P • Transferrin-mætning; P
Immunologi og inflammation	C-reaktivt protein (CRP); P, Immunglobulin G (IgG); P, Immunglobulin A (IgA); P, Immunglobulin M (IgM); P	
Væske- og elektrolytbalance	Albumin; P, Natrium; P, Kalium; P, Kreatinin (eGFR), Calcium; P	
Hæmostase	Koagulationsfaktor II + VII + X (INR); P	
Metabolisme	Hæmoglobin A1c; Hb(B), HbA1c	
Organmarkører	Bilirubin; P, Alaninaminotransferase (ALAT); P, Basisk fosfatase; P, Laktatdehydrogenase (LDH); P, Amylase (total); P eller Amylase Pancreas-type; P	
Endokrinologi	Thyrotropin (TSH); P	
Urinstix	Ved relevant anamnese	

Figur 1

Analyserække som indgang til pakkeforløbet om uspecifikke symptomer på alvorlig sygdom, der kan være kræft.

må anvendes, såfremt der er symptomer på kolorektal cancer.

Lignende drøftelser fandt sted i arbejdsgruppen. Her var det interessant at erfare, hvor mange meninger der kan være om klinisk biokemiske analyser, hvorimod den billeddiagnostiske udredning ikke gav anledning til nævneværdig diskussion. De fleste klinikere har en holdning til biokemiske analyser, og der var også forskellige 'kæpheste' blandt arbejdsgruppens klinikere. Summa summarum besluttede SST den i Figur 1 illustrerede analyserække som indgang til pakkeforløbet om uspecifikke symptomer på alvorlig sygdom, der kan være kræft. Som nævnt blev F-Hb også medtaget som en mulighed, men ikke som et 'must'.

Efter henvisning i pakkeforløb til sygehus med henblik på videre udredning er der i pakkeforløbet ikke angivet en minimums biokemisk udredning. På dette trin sker udredningen på basis af en individuel vurdering af den enkelte patient. Der er dog anført en inspirationsliste af biokemiske og mikrobiologiske analyser, hvor selvfølgelig M-Komponent og frie lette kæder er listet. Det er også her, at eksempelvis tumormarkører kan tages i anvendelse.

Der forestår nu en implementering af pakkeforløbet, som ellers efter røster fra forskellige side allerede er godt i gang. En drøftelse og anbefaling om implementering i Klinisk Biokemi er ønskeligt.

Svedtesten – erfaringer fra to Klinisk Biokemiske Afdelinger i Danmark

Helle Pilgaard Kristiansen (1)
Biokemiker
Blodprøver og Biokemi
Aarhus Universitetshospital
hepkri@rm.dk

Elke Hoffmann-Lücke (2)
Overlæge
Blodprøver og Biokemi
Aarhus Universitetshospital

Martin Töffner Pedersen (3)
Bioanalytikerunderviser
Blodprøver, Biokemi og Immunologi
Sygehus Sønderjylland

Anne Lindegaard Christiansen (4)
Afdelingslæge
Blodprøver, Biokemi og Immunologi
Sygehus Sønderjylland

Eva Rabing Brix Petersen (5)
Ledende overlæge
Blodprøver, Biokemi og Immunologi
Sygehus Sønderjylland

Michael Mejer Hunderup (6)
Læge i hoveduddannelse
Blodprøver, Biokemi og Immunologi
Sygehus Sønderjylland
Michael.Mejer.Hunderup2@rsyd.dk

Svedtesten anvendes til at diagnosticere og monitorere patienter med cystisk fibrose (CF). For det enkelte laboratorium er det en tidskrævende og relativ besværlig test at udføre, og testen bør kun udføres af enkelte og erfarne medarbejdere. Der findes ikke en dansk guideline for udførelse af svedtesten, men Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) har udgivet en meget udførlig guideline [1]. I denne artikel belyser vi noget af det arbejde og de problematikker, som de Klinisk Biokemiske Afdelinger ved Aarhus Universitetshospital (AUH) og Sygehus Sønderjylland (SHS) har haft omkring svedtesten. AUH skiftede metode i 2018, og SHS har undersøgt, om svedtesten må gentages samme dag.

Cystisk fibrose (CF)

CF er en autosomal recessiv sygdom, der skyldes mutationer i cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)-genet. I dag kendes over 2000 forskellige mutationer i CFTR, hvor F508del er den langt hyppigste med en frekvens på mere end 80% blandt danske patienter med CF [2]. I Danmark fødes én ud af 4800 levendefødte med CF, mens én ud af 34 (ca. 3%) fødes med en mutation på den ene allel og er raske bærere (3). CFTR-genet koder for en ionkanal, der varetager transport af klorid over cellemembranen [2].

CF har en række manifestationer, herunder særligt at væskeindholdet i lungernes sekret påvirkes, således at sekretet bliver sejt, hvilket fører til sekretstagnation og infektioner. Den eksokrine pancreasfunktion er også påvirket, og der ses nedsat sekretion af fordøjelsesenzymer. I 2016 blev der i Danmark indført screening af alle nyfødte for CF som en del af det danske screeningsprogram for

medfødte sygdomme. Siden da er hælblodprøverne således blevet undersøgt for immunreaktiv trypsinogen (IRT) ved Statens Serum Institut [3]. Et højt niveau af IRT fører til genetisk udredning, hvor der bl.a. undersøges for F508del mutationen.

Svedtesten til diagnostik af CF

Når CFTR-proteinet er defekt, kan Cl⁻ ioner ikke reabsorberes fra sveden, og CF-patienter har derfor en høj koncentration af klorid i deres sved, ligesom også koncentrationen af natrium og kalium i sveden er påvirket. Svedtesten på AUH og SHS kan opdeles i to trin. Første trin består af en iontoforese (stimulering af svedproduktion) og opsamling af sved. Til iontoforesen anvendes pilocarpin-geldiske, som placeres på patientens underarm. Geldiskene er bindeleddet mellem hud og to elektroder, og der sendes en svag elektrisk strøm igennem. Pilocarpin-ioner diffunderer herved ind i underhuden og stimulerer svedkirtlerne til svedproduktion. Andet trin består af en analyse af sveden, som kan foretages ved enten kvantitativ måling af svedens indhold af Cl⁻ ioner (kolometrisk titrering med Ag⁺ ioner) (AUH) eller ved en konduktivitetmåling (SHS). Ved konduktivitetmålingen måles der på ledningsevnen af den producerede sved, hvilket giver et udtryk for svedens indhold af salte (primært men ikke kun NaCl) [1,4].

Skift af metode ved AUH

Ved AUH er svedtesten forankret under Blodprøver og Biokemi. Analysen udføres af bioanalytikere, der er tilknyttet den prøvetagningsenhed, som hører hjemme ved Børn og Unge. Da der i 2018 skulle indkøbes nyt udstyr dertil, blev dette foretaget i tæt samråd med klinikerne fra Børn og

Tabel 1

Fordeling af udførte svedtests ved Blodprøver og Biokemi, Aarhus Universitetshospital. Data er indhentet fra Business Intelligence portalen i Region Midtjylland den 07.01.2022. Kun analyser med talsvar er inkluderet i opgørelsen.

	2018			2019	2020	2021
	NPU21552 ³	NPU01537 ⁴	Total			
Fordeling på afdelinger (n)						
Infektionsmedicinsk ¹	6	2	8	44	66	136
Børn og Unge ²	32	8	40	89	67	88
Total	38	10	48	133	133	224
Aldersfordeling (n)						
0-2 år			21	19	26	29
> 2 år			27	114	107	195
Aldersgennemsnit (år)			8,4 år	14,8 år	17,0 år	21,0 år

¹ Data fra Infektionssygdomme Klinik og Infektionsmedicinsk Afsnit, Aarhus Universitetshospital.

² Data fra Børn og Unge Afsnit, Børn og Unge Klinik, Børn og Unge – Randers, Børn og Unge Klinik Randers og diverse Børn og Unge Klinikker (Ydernumre i Region Midtjylland).

³ NPU21552 Sved-Sved (ledningsevne).

⁴ NPU01537 Sved-Chlorid. Den nye analysemetode indført i november 2018.

Unge samt Infektionsmedicinsk Afdeling. De anbefalede kraftigt indkøb af et udstyr, der måler på koncentrationen af Cl⁻ ioner, i modsætning til den tidligere analysemetode, der målte på ledningsevnen i sveden. CLSI anbefaler, at måling af ledningsevne kun benyttes som en screeningsmetode, og patienter, der findes positive med denne metode, bør få lavet en kvantitativ måling af klorid i sved [1]. Valget faldt på Macroduct og ChloroChek fra firmaet ELITechGroup. Valideringen af det nye udstyr fulgte retningslinjen fra CLSI [1]. Resultater af svedtesten er meget afhængige af såvel præanalytiske som analytiske forhold. Det er f.eks. væsentligt, at stimulering og opsamling af sved foregår optimalt for at sikre en korrekt svedrate. CLSI har opstillet anbefalinger for udførelse af svedtesten herunder patientens alder ved første test, hvor på kroppen stimulering af sved bør foretages samt andre præanalytiske forhold, referenceintervaller og kvalitetskontrol. De klare retningslinjer har gjort valideringen og rutinedriften meget ligefrem og nem at gå til.

Cystisk Fibrose Center Skejby har været tilknyttet Børneafdelingen siden 1990 og flyttede til Skejby i 1996. I 2007 blev Infektionsmedicinsk Afdeling inddraget i samarbejdet. Alle patienter kommer til kon-

trol i Børneambulatoriet, og ved behov for indlæggelse er dette for voksne ved Infektionsmedicinsk Afdeling, mens det for børn er ved Børn og Unge. Siden ibrugtagningen af det nye udstyr i slutningen af 2018 er der set en kraftig stigning i antallet af udførte svedtests (Tabel 1). Desuden er aldersgennemsnittet for patienter, der får lavet undersøgelsen, steget. I 2018 var ca. 44% af patienterne, der fik udført analysen, to år eller derunder, mens denne andel er faldet til 13% i 2021 (Tabel 1). Den tilsvarende stigning i antallet af patienter over to år, som får lavet analysen, tyder på, at den i langt højere grad benyttes til monitorering end til diagnostik, da diagnosen typisk stilles i de to første leveår. Forklaringen skal nok findes i de nye og forbedrede behandlingsmuligheder til CF. Dette drejer sig om medicin, der korrigerer defekterne i CFTR og har varierende effekt på de forskellige mutationer i genet. Ved flere af disse behandlinger kan levevilkårene forbedres til næsten det normale, hvilket afspejles i, at resultatet af svedtesten i flere tilfælde falder til et niveau lige over eller i normalområdet [2,5].

Behandlingen af CF har ændret sig over de seneste år med de nye behandlingsmuligheder. Behandlingen er målrettet den enkelte patient, da strategien afhænger af patien-



Tabel 2

Oversigt over antal rekvisitioner og fordeling af resultaterne af disse i perioden 2015-2021 for svedtests udført ved Blodprøver, Biokemi og Immunologi, Sygehus Sønderjylland. Ej gennemført dækker bl.a. over manglende fremmøde, aflysning og ugennemførlig test. Manglende data indikerer, at det udelukkende kunne ses, at testen var rekvireret.

År	Rekvisitioner	Normalområde	Gråzone	Patologisk	Ej gennemført	Manglende data
2015	26	21	1	0	2	2
2016	34	27	1	2	2	2
2017	54	49	2	0	3	0
2018	48	41	0	2	3	2
2019	36	29	0	1	6	0
2020	25	22	0	0	3	0
2021	21	20	0	0	1	0
Sum	244	209	4	5	20	6

tens specifikke mutation [5]. CF-patienter ved AUH, som modtager behandling, får målt Cl⁻ ioner i deres sved ved opstart af behandling og som kontrol af behandlings-effekt. Data fra 121 patienter ved AUH, som har mere end et talsvar siden 2018, hvor det nye udstyr blev taget i brug, er illustreret i Figur 1. For hver patient er første og sidste analysesvar identificeret og gennemsnitlige værdier er beregnet: medianen for alle første målinger var 95 mmol/L, mens medianen for alle sidste målinger fandtes at være 44 mmol/L (Figur 1). Referenceintervallet for Cl⁻ ioner er: < 30 mmol/L (CF usandsynligt) med et gråzoneområde på 30-59 mmol/L. Det patologiske område er ≥ 60 mmol/L. Effekten af behandlingen afspejles tydeligt i disse data. Der forventes derfor en fortsat stigning i antallet af rekvirerede svedtests, om end mere moderat, end det der er observeret de seneste par år, men som afspejler behovet for fortsat at monitorere patienterne.

Pilocarpin-eksponering ved svedtesten

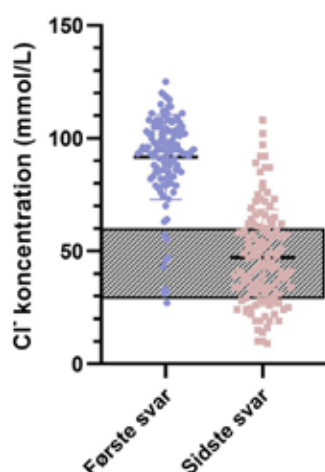
Ved SHS er svedtesten forankret under Blodprøver, Biokemi og Immunologi og udføres med udstyret Nanoduct fra Wescor med følgende svarintervaller: 17-60 mmol/L equivalent (eq) NaCl (normal), 61-80 mmol/L eq NaCl (gråzone) og > 80 mmol/L eq NaCl (patologisk) [4]. I perioden 2015-2021 blev der på SHS rekvireret 223 svedtests (Figur 2 og Tabel 2), hvoraf langt hovedparten var i normalområdet (Tabel 2).

Pilocarpin er en muskarinagonist, der bl.a. stimulerer de ekkrine svedkirtler. Ved SHS anvendes geldiske, der består af 1,5% w/w pilocarpinnitrat i vandbaseret agargel. En geldisk vejer cirka 1,35 gram, og der anvendes 2 stk. ved hver test [4,6]. Under punkt 11 i sikkerhedsdatabladet står følgende om eksponering af huden: 'Kan virke lettere irriterende. Der er risiko for, at pilocarpinnitrat kan optages gennem huden og, ved omfattende kontakt, medføre symptomer beskrevet under 'Indtagelse'. Ved 'Indtagelse' står der videre at: 'Pilocarpinnitrat er i ren form et meget giftigt stof, der efter indtagelse kan medføre spyt- og svedafsondring, næse- og tåreflåd, sammentrækning af pupillerne, svimmelhed, kvalme, opkastning og diarré. I alvorligere tilfælde er der risiko for kollaps og hjertestop' [6].

Med tanke på ovenstående overvejede vi, om svedtesten må gentages umiddelbart efter en mislykket test ift. pilocarpin-eksponeringen. Udover i sikkerhedsdatabladet for svedtesten søgte vi svar i guidelinen fra CLSI [1]. Rapporten omtaler geldiske med pilocarpinnitrat og oplyser, at testen kan

Figur 1
Monitorering af patienter med cystisk fibrose ved Aarhus Universitetshospital. Cl⁻ koncentrationen hos 121 patienter, der har fået foretaget analysen mere end en gang i perioden november 2018 til december 2021. Det første og sidste prøvesvar for hver patient er vist. Det skraverede område indikerer gråzoneområdet for diagnose af cystisk fibrose, der ligger mellem 30 mmol/L til 59 mmol/L (1). Data er indhentet fra Business Intelligence portalen i Region Midtjylland den 07.01.2022.

Patienter med flere analysesvar



Antal rekvirerede svedtests (Nanoduct) på Sygehus Sønderjylland



Figur 2

Antallet af rekvirerede svedtests ved Sygehus Sønderjylland i perioden 2015-2021.

gentages. I rapporten omtales dog geldiske med et indhold af pilocarpinnitrat på 18,4 mmol/L (5 g/L; 0,5% w/v). Dette var ikke direkte sammenligneligt med vores geldiske, der indeholder 1,5% w/w pilocarpinnitrat. På baggrund af beregnet rumfang samt vægt af vores geldiske estimerede vi pilocarpinnitrat-indholdet til at være ca. 12,5 g/L, altså mere end den dobbelte massekoncentration sammenholdt med de geldiske, der nævnes i guidelinen fra CLSI.

Vi rettede derfor henvendelse til vores kolleger på Blodprøver og Biokemi, Odense Universitetshospital, der var behjælpelige med at viderefremde problemstillingen til Lægemedelinformationen i Region Syddanmark, der på daværende tidspunkt hørte under samme afdeling. Derfra fik vi et meget grundigt svar med gennemgang af litteratur, men desværre var konklusionen fortsat, at det ikke kunne afgøres, hvorvidt testen måtte gentages. Lægemedelinformationen bad os i stedet kontakte Lægemedelstyrelsen og efterspørge en guideline for håndtering af gentagne tests. Det gjorde vi tilbage i september 2021, og vi besluttede, at indtil en evt. anbefaling fra Lægemedelstyrelsen udkom, ville vi ud fra et forsigtighedsprincip ikke gentage svedtesten. Lægemedelstyrelsen er nu vendt tilbage med svar på vores henvendelse. De har ikke udarbejdet en guideline, men de har indhentet et svar fra fabrikanten, ELITechGroup, der henviser videre til en række

kilder herunder guidelinen fra CLSI. Der er altså ikke kommet noget konkret svar på, hvorvidt vi kan gentage svedtesten.

Da vi derfor fortsat finder det uvist, hvorvidt svedtesten kan gentages, uden at det medfører for stor pilocarpin-eksponering, har vi ved SHS valgt at holde fast i beslutningen om, at svedtesten ikke må gentages inden for samme døgn. Det skal desuden nævnes, at det i svaret fra Lægemedelstyrelsen oplyses, at ELITechGroup stopper for salg af Nanoduct i EU pga. nye krav (MDR/IVDR), og at de vil informere deres kunder derom i 2022. Ved yderligere mailkorrespondance med ELITechGroup er SHS blevet oplyst om, at der også stoppes for produktion af Sweat-Chek (udstyr til konduktivitetmåling på sved).

Perspektiver

Det anbefales af CLSI, at måling af ledningsevne kun benyttes som en screeningsmetode, og at positive resultater følges op med en kvantitativ måling af Cl⁻ ioner, hvilket er den metode, som AUH er skiftet til. På SHS overvejes aktuelt indkøb af nyt udstyr til svedtesten, da der som anført stoppes for salg af Nanoduct. Ved indkøb af nyt udstyr haves ovenstående anbefaling fra CLSI i mente. Indtil videre anvendes Nanoduct dog fortsat på SHS, og beslutningen om, at svedtesten ikke må gentages inden for samme døgn, fastholdes.

Referencer

1. CLSI. Sweat Testing: Specimen Collection and Quantitative Chloride Analysis. 4th ed. CLSI guideline C34. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2019.
2. De Boeck K; Cystic fibrosis in the year 2020: A disease with a new face. *Acta Paediatrica*. 2020;109:893–899.
3. Skov M, Bækvad-Hansen M, Hougaard DM, Skogstrand K, Lund AM, Pressler T, et al. Cystic fibrosis newborn screening in Denmark: Experience from the first 2 years. *Pediatric Pulmonology*. 2020;55:549–555.
4. NANODUCT. Neonatal Sweat Analysis System. Instruction/Service Manual M2188-3 rev A. Wescor, Inc.; 2004.
5. De Boeck K, Amaral MD; Progress in therapies for cystic fibrosis. *Lancet Respir Med*. 2016;4:662–674.
6. Supply Kit for NANODUCT. SS-043. Sikkerhedsdatablad.

Årsregnskab for DSKB 2021

Det fulde regnskab kan ses i 'Årsrapporten for 2021', som er tilgængelig på DSKB's hjemmeside: <https://dskb.dk/aarsrapport/>

Resultatopgørelse 1. januar - 31. december

Note	2021	2020
2 Indtægter	282.702	294.203
Indtægter i alt	282.702	294.203
3 Fremstillingsomkostninger, DSKB-Nyt/hjemmeside	-149.387	-177.096
4 Møde- og udvalgsomkostninger	-261.791	-149.951
5 Administrationsomkostninger	-105.889	-135.537
Kapacitetsomkostninger i alt	-517.067	-462.584
Driftsresultat	-234.365	-168.381
6 Kursusindtægter	444.200	291.211
7 Kursusudgifter	-457.679	-328.255
Overskud i kursusafdelingen	-13.479	-37.044
Resultat før finansielle poster	-247.844	-205.425
8 Andre finansielle indtægter	9.116	9.783
Øvrige finansielle omkostninger	-2.615	0
Finansiering netto	6.501	9.783
Årets resultat	-241.343	-195.642
Forslag til resultatdisponering:		
Disponeret fra overført resultat	-241.343	-195.642
Disponeret i alt	-241.343	-195.642

Balance 31. december

Aktiver			
Note		2021	2020
Omsætningsaktiver			
	Tilgodehavender fra salg og tjenesteydelser	45.500	125.450
	Andre tilgodehavender	5.596	0
	Tilgodehavender i alt	51.096	125.450
9	Andre værdipapirer	1.211.719	1.250.139
	Værdipapirer i alt	1.211.719	1.250.139
	Likvide beholdninger	40.547	262.053
	Omsætningsaktiver i alt	1.303.362	1.637.642
	Aktiver i alt	1.303.362	1.637.642
Passiver			
Egenkapital			
10	Overført resultat	1.264.476	1.544.239
	Egenkapital i alt	1.264.476	1.544.239
Hensatte forpligtelser			
11	Henlæggelse til uddeling vedrørende foretagskonkurrence	7.259	7.259
	Hensatte forpligtelser i alt	7.259	7.259
Gældsforpligtelser			
12	Anden gæld	31.627	86.144
	Kortfristede gældsforpligtelser i alt	31.627	86.144
	Gældsforpligtelser i alt	31.627	86.144
	Passiver i alt	1.303.362	1.637.642

Nyt om navne – 2, 2022



Ansættelser og udnævnelser

Helene Gellert-Kristensen

1. marts 2022

Læge i introduktionsstilling
Afdeling for Klinisk Biokemi,
Rigshospitalet

Michael Mejer Hunderup

1. marts 2022

Læge i hoveduddannelse
Blodprøver, Biokemi og Immunologi,
Sygehus Sønderjylland

Camilla Herskin

1. april 2022

Læge i introduktionsstilling
Afdeling for Klinisk Biokemi,
Rigshospitalet

Young Bae Villy

1. april 2022

Overlæge
Klinisk Biokemisk Afdeling,
Nordsjællands Hospital Hillerød

Vicky Jenny Rebecka Wetterstrand

1. april 2022

Læge i hoveduddannelse
Klinisk Biokemisk Afdeling,
Nordsjællands Hospital Hillerød

Stephanie Geisler Crone

1. april 2022

Biokemiker
Klinisk Biokemisk Afdeling,
Nordsjællands Hospital Hillerød

Gabriela Dorina Amariei

1. april 2022

Biokemiker
Klinisk Biokemisk Afdeling,
Nordsjællands Hospital Hillerød

Ina Mathilde Kjær

1. maj 2022

Læge i hoveduddannelse
Blodprøver og Biokemi,
Odense Universitetshospital

Anders Mønsted Abildgaard

1. maj 2022

Afdelingslæge
Blodprøver og Biokemi,
Aarhus Universitetshospital

Nye medlemmer af DSKB

Anne Juhl Nielsen

Biokemiker

Camilla Herskin

Læge
Rigshospitalet

Jonas Ellegaard Nielsen

Biokemiker

Laura Emilie Schmidt

Læge

Lone Pridal

Kemiingeniør
Sjællands Universitetshospital

Mia Østergaard Johansen

Læge
Blodprøver og Biokemi,
Aarhus Universitetshospital

Signe Toräng

Klinisk akademiker
Klinisk Biokemisk Afdeling,
Sjællands Universitetshospital

Stine Venø

Læge
Klinisk Biokemisk Afdeling,
Aalborg Universitetshospital

Yildiz Sainoski

Læge



Dansk Selskab for Klinisk Biokemi
www.dskb.dk

Ansvarshavende redaktører for bladets sektioner:



Redaktør
Stine Linding Andersen
stine.a@rn.dk



Redaktionsgruppemedlem
Louise Lylloff
louise.lylloff@vest.rm.dk



Redaktionsgruppemedlem
Lene Rosenberg
lene.rosenberg2@rsyd.dk



Redaktionsgruppemedlem
Mette Fogh Møller
mette.fogh.moeller@vest.rm.dk



Formand
Mads Nybo
e-mail: mads.nybo@rsyd.dk



Nyt om navne
Bent Lind
bent.struer.lind.01@regionh.dk



Webredaktør
Elke Hoffmann-Lücke
elkehoff@rm.dk



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

[Annoncebestilling og yderligere information](#)

Stine Linding Andersen
Afdelingslæge, Klinisk Biokemisk Afdeling, Aalborg Universitetshospital
stine.a@rn.dk

cobas[®] pro integrated solutions

Simplicity meets Excellence



**Automated
maintenance**



**Predictive
loading list**



**cobas[®]
SonicWash**



**Loading
on the fly**



**cobas[®]
AutoCal**



**cobas[®]
mobile solution**