

# NYHETSAVIS NR. 1/2017

Mars 2017

## INNHold:

### Informasjon

- Feil i referansegrenser oppgitt for IGF-1 i nyhetsavis 3/2016.
- NPU-systemet gir ikke informasjon om hvilket prøvemateriale eller hvilke prøvetakingsforhold som skal brukes ved en undersøkelse.

### Klinikk

- Interferens i Roche metode er hyppigere enn forventet.
- AMH (antimüllerhormon), én prøve én gang er nok.
- Hormonlaboratoriet anbefaler å måle både anti-GAD og anti-IA2 ved utredning av type 1 diabetes / LADA.

### Analysenytt

- Ny metode for bestemmelse av DHEA fra 16.01.2017.
- Akkreditering av flere LC-MS/MS metoder.
- Endring i referansegrenser for hCG i serum fra 01.03.2017.
- Gråsoneverdier i lavt måleområde for metanefrin.

### Nyheter fra forskningen

# Hormonlaboratoriet

[Klinikk for laboratoriemedisin – MBK](#)

Oslo universitetssykehus, Aker

# INFORMASJON

## **Feil i referansegrenser oppgitt for IGF-1 i nyhetsavis 3/2016.**

Det ble i nyhetsavis 3/2016 oppgitt at referanseområde for IGF-1 for barn 10-12 år var 19-57 nmol/l. Dette er feil, **riktig referanseområde for IGF-1 for barn 10-12 år er 9-57 nmol/l.**

## **NPU-systemet gir ikke informasjon om hvilket prøvemateriale eller hvilke prøvetakingsforhold som skal brukes ved en undersøkelse.**

Det norske bruksnavnet er bygd opp ved hjelp av et prefiks med bindestrek som etterfølges av det norske bruksnavnet. Prefiksene gir et innblikk i hvilket system, del av pasienten eller omgivelsene, som er undersøkt. Alle blodanalyser har derfor B- som prefiks, urinanalyser U-, plasmaanalyser P-, og så videre.

Analysekoden angir en tilstand hos pasienten eller i den del av pasienten (dennes blod, urin, plasma) som undersøkes på et gitt tidspunkt. Dette prinsippet er sentralt i NPU-nomenklaturen og betyr at det ikke finnes NPU-koder for «serumundersøkelser». Serum er en væske som fremstilles ved etterbehandling av en blodprøve, og er ikke en naturlig del av pasienten. Formålet med å fremstille og undersøke serum er som regel å få opplysninger om tilstanden i pasientens plasma på prøvetagningstidspunktet. Resultatene skal derfor kodes som plasmaundersøkelser selv om det i mange tilfeller er en serumprøve som er analysert.

Imidlertid har det i noen norske fagmiljø vært et behov for å opprette egne koder for serumanalyser fordi begge prøvematerialene er i utstrakt bruk og det er påvist signifikante forskjeller i referanseverdier mellom serum og plasma. Disse har da fått egne NOR koder for serumanalysen.

Referanse: Norsk laboratoriekodeverk, Veileder (IS-2341).

# KLINIKK

## **Interferens i Roche metode er hyppigere enn forventet.**

Hormonlaboratoriet analyserte 18000 fritt T4 prøver og 12000 TRAS prøver i 2016. Måling av fritt T4 og TSH utføres ved Hormonlaboratoriet med Delfia metode. Roche metode brukes til måling av TRAS og fritt T3 ved Hormonlaboratoriet og til måling av TSH og fritt T4 ved Ullevål sykehus, Rikshospitalet, Diakonhjemmet sykehus med flere. I kitvedlegget til Roche metode angis det at det i sjeldne tilfeller kan oppstå interferens på grunn av ekstremt høye titre av antistoff mot streptavidin eller ruthenium i pasientprøven. Det bør ikke tas prøver fra pasienter som behandles med høye biotindoser (> 5 mg/dag), før minst 8 timer etter siste biotininntak.

Roche oppgir at de i perioden 2006-2011 hadde fått 174 klager av 285,4 millioner solgte FT4 tester på metodeavhengig interferens.

Hormonlaboratoriet har i 2016 påvist metodeavhengig falskt forhøyet fritt T4 eller TRAS i 18 prøver målt med Roche metode; et omfang som er betydelig høyere enn forventet. Serum fra fire pasienter der alternativ metode viste divergerende prøvesvar ble sendt til Roche Diagnostics. Man fant antistoffer mot Streptavidin hos tre pasienter og humane antistoffer mot mus (HAMA) hos en pasient. En pasient var behandlet med store doser Biotin.

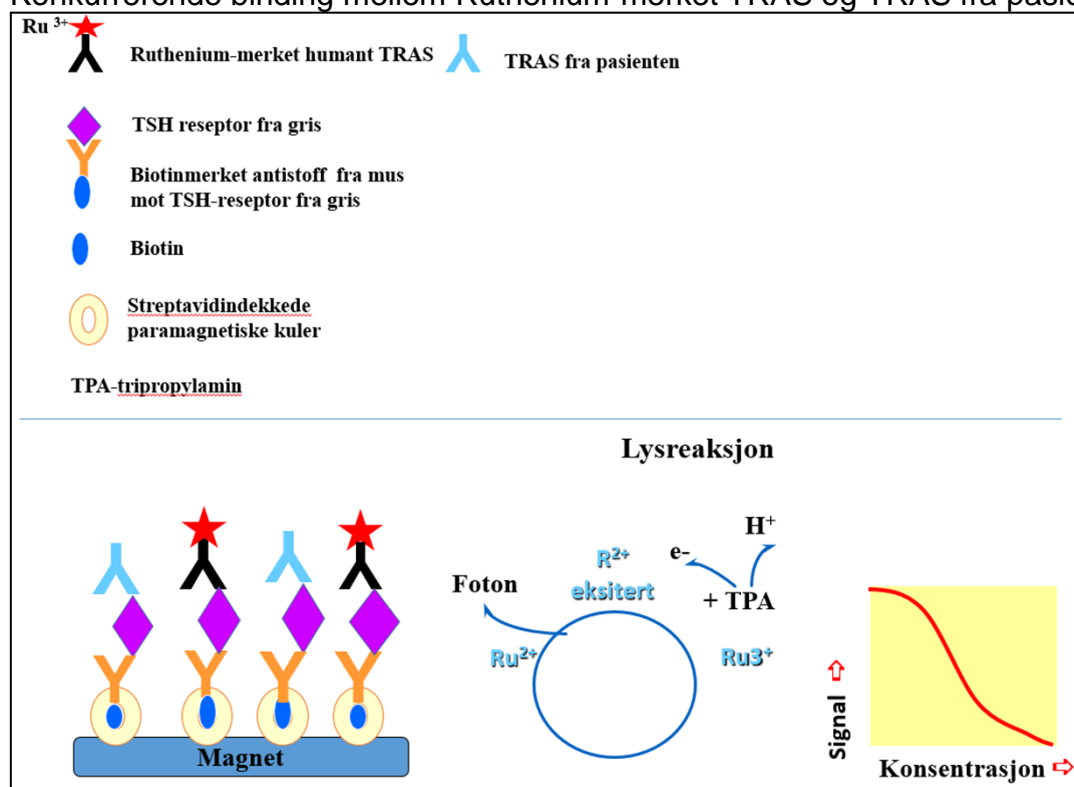
Roche fritt T4 og TRAS er konkurrerende metoder som begge vil gi falskt forhøyet resultat ved metodeavhengig interferens.

Roche TSH er en ikke-konkurrerende metode som vil gi falskt for lavt resultat ved metodeavhengig interferens.

Både rekvirent og laboratorielege bør være oppmerksom på at prøvesvarene alltid må sammenholdes med pasientens symptomer og andre tyreoidafunksjonsprøver. Ved mistanke om interferens bør prøven analyseres med annen metode. Alternativ metode bør ikke inneholde lignende reagenser (eks. antistoffer fra/mot samme dyr, biotin-streptavidin, merkelapp) som rutinemetoden.

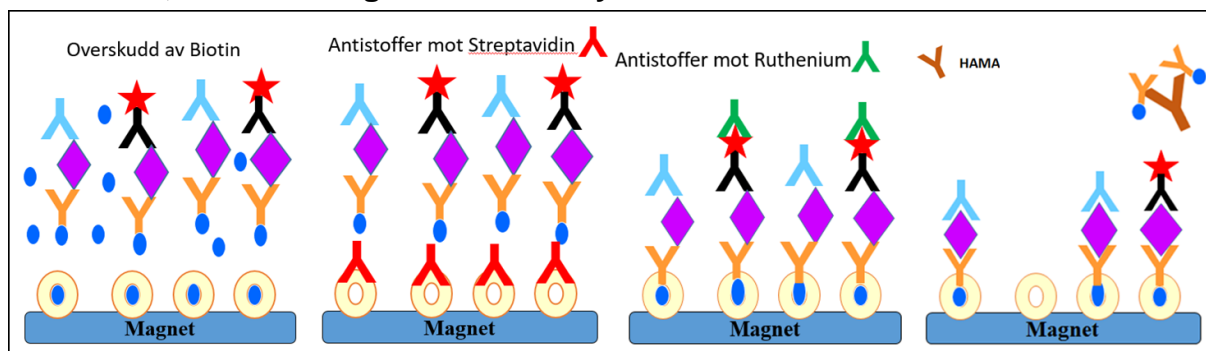
### Roche TRAS metode (forenklet fremstilling):

Konkurrerende binding mellom Ruthenium-merket TRAS og TRAS fra pasienten.



Ruthenium-merket TRAS og TRAS fra pasienten konkurrerer om bindingssetene på biotinmerket TSH-reseptor. Streptavidin dekkede paramagnetiske kuler fester seg til biotinmerket TSH reseptor. De paramagnetiske kulene fester seg på en magnet. Etter vask tilsettes Tripropylamin (TPA) som avgir elektroner. Ruthenium eksiteres og avgir fotoner. Jo svakere signal, jo mer TRAS er det i pasientprøven. Analytisk CV er 20 % ved TRAS konsentrasjon 0,9 IU/l og 10 % ved 3,8 IU/l.

**Interferens forårsaket av biotin, antistoffer mot streptavidin, antistoffer mot ruthenium, eller HAMA gir falskt for høy TRAS.**



### **AMH (antimüllerhormon), én prøve én gang er nok.**

Måling av AMH kan gi en indikasjon på ovarial reserve, men en kan ikke vurdere fertilitet eller sannsynliggjøre mulighet for å bli gravid ut fra måling av AMH alene. Analyse av AMH kan brukes til å predikere ovarial respons på hormonstimulering i forbindelse med assistert befruktning (IVF-behandling).

Vi ser at denne analysen brukes av en del kolleger flere ganger på samme pasient. Den reflekterer ovarial reserve og samsvarer godt med ultralyd av eggstokker med tanke på antall gjenværende primordialefollikler (eggceller) i eggstokkene. Dette antallet endrer seg lite over tid, men faller selvfølgelig med alder og er null etter menopause. Gjentatte målinger av AMH er derfor unødvendig. Har man et lavt antall follikler, vil ikke dette endre seg.

Hos kvinner med polycystisk ovarialsyndrom (PCOS) vil en to til tre ganger økning av antall follikler føre til en to til tre ganger økning i serum konsentrasjon av AMH.

Prematur ovariesvikt medfører tidligere fall i AMH-konsentrasjon enn kvinnens alder skulle tilsi. Den store fordelene ved å bestemme AMH i serum er at konsentrasjonen er uavhengig av hvor i menstruasjonssyklus prøven tas, i motsetning til FSH. Likedan er AMH-konsentrasjonen lite påvirket av livsstilsfaktorer og etnisitet.

Referanseområde for kvinner:

20-34 år	4-84	pmol/l
35-39 år	1-54	pmol/l
40-50 år	0,1-39	pmol/l
≥ 51 år	< 0,1	pmol/l

En AMH konsentrasjon på < 1 pmol/l indikerer antakelig lav ovarial reserve.

## Hormonlaboratoriet anbefaler å måle både anti-GAD og anti-IA2 ved utredning av type 1 diabetes / LADA.

Autoimmune reaksjoner er en viktig årsak til ødeleggelsen av  $\beta$ -cellene i pankreas og det medfølgende bortfall av insulinsekresjonen ved type I diabetes. Det er publisert en rekke arbeider som viser nytten av å bestemme ulike sirkulerende øycelle autoantistoffer (ICA) for prediksjon av type I diabetes. Islet Autoantibody Standardization Program (IASP) (tidligere kalt The Diabetes Autoantibody Standardization Program (DASP)) har som mål å forbedre og standardisere måling av ulike autoantistoffer assosiert med type 1 diabetes.

Omtrentlig hvert andre år arrangeres det en workshop i regi av IASP hvor det sendes ut totalt 140 prøver fra pasienter som nylig er blitt diagnostisert med type 1 diabetes og ikke diabetiske kontroller. Hormonlaboratoriet er en av mange laboratorier som deltar og analyserer de tilsendte prøvene for autoantistoffer mot både glutaminsyre dekarboksylase (anti-GAD), protein tyrosin fosfatase-intracellulær del (anti-IA2), insulin (anti-IAA) og sinktransporter T8 (anti-ZnT8). I etterkant får deltagerne tilsendt en rapport som viser beregnet sensitivitet og spesifisitet for de ulike analysene.

Hormonlaboratoriets resultater fra de to siste workshopene ble som følger (i %):

Analyse	IASP 2015		IASP 2016	
	<i>Sens</i>	<i>Spes</i>	<i>Sens</i>	<i>Spes</i>
anti-GAD	44	88,9	54	97,8
anti-IA2	70,8	100	66	100
anti-IAA	8	100	8,2	100
anti-ZnT8	49	98,9	50	98,9
<b>anti-GAD og anti-IA2*</b>	<b>85,1</b>	<b>88,4</b>	<b>82,0</b>	<b>97,8</b>

\* Prøven defineres som positiv dersom minst en av analysene er positiv.

En analyses sensitivitet og spesifisitet er i IASP definert som treffsikkerhet i forhold til å skille kontroller fra pasienter med diagnostisert type 1 diabetes. Selv blant type 1 diabetikere er det uvanlig å uttrykke alle fire autoantistoffene, derfor vil det i IASP resultatene bli en del prøvesvar som blir registrert som falsk negative, noe som vil redusere sensitiviteten for aktuelle antistoff. Dvs. en test for et autoantistoff som er mer sjeldent uttrykt, vil høyst sannsynlig komme ut med lavere sensitivitet enn en test for et mer vanlig uttrykt autoantistoff, -og dette er noe av forklaringen på den lave sensitiviteten vi ser for anti-IAA analysen.

**Sensitivitet og spesifisitet:** Eksempel på beregning hvor vi har brukt Hormonlaboratoriets IASP 2016 resultater for anti-GAD analysen.

<b>Diagnostiserte Type I diabetikere i IASP 2016</b> <b>50</b>	<b>Friske kontroller i IASP 2016</b> <b>90</b>
Sanne positive anti-GAD resultater 27	Falske positive anti-GAD resultater 2
Falske negative anti-GAD resultater 23	Sanne negative anti-GAD resultater 88
<b>Sensitivitet</b> Sanne positive/ antall Type I diagnostiserte $27/50 = 0,54 = \mathbf{54\%}$	<b>Spesifisitet</b> Sanne negative/antall friske kontroller $88/90 = 0,978 = \mathbf{97,8\%}$

Vi ser at også sensitiviteten til anti-GAD analysen, som er den autoantistoff analysen vi mottar flest prøver til ved Hormonlaboratoriet, er noe lav, - dvs **tester man kun for anti-GAD er det relativt stor sannsynlighet for å ikke oppdage at pasienten har type I diabetes da testen kun slår positivt ut på ca 50% av diagnostiserte type I diabetikere**. Anti-IA2 analysen derimot har bedre sensitivitet, -men ved å analysere en prøve for både anti-GAD og anti-IA2, og definere prøven som positiv dersom den er positiv for ett eller begge antistoffene, så finner vi at det gir betydelig økt sensitivitet (se første tabell, nederste rad). Vi undersøkte også hvordan det å legge til ytterligere analyser (anti-IAA og anti-ZnT8) påvirket sensitivitet og spesifisitet, men i dette tilfellet ga det ingen eller svært liten effekt.

I tillegg til å se hvordan de ulike autoantistoff analysene presterer i forhold til hverandre og i forhold til andre laboratorier og metoder, bruker Hormonlaboratoriet også IASP resultatene til å vurdere gjeldende cut-off grenser. For å teste om dagens cut-off grenser er fornuftige, analyseres resultatene ved hjelp av ROC kurver. En ROC kurve brukes blant annet til å vurdere optimal cut-off grense for en test, dvs den verdi som gir flest mulig sanne positive samtidig med færrest mulig falske positive. Med andre ord kan man bruke ROC kurven til å se hvordan en endring i cut-off påvirker sensitivitet og spesifisitet. Senker man cut-off grensen for en analyse vil man finne flere sanne positive og dermed øke sensitiviteten, men man vil også få flere falske positive som gir redusert spesifisitet. Basert på ROC analyser av Hormonlaboratoriets IASP resultater 2015 og 2016 er det ikke funnet grunnlag for å endre dagens cut-off grenser for noen av våre autoantistoff analyser.

### Konklusjon:

Basert på IASP 2015 / 2016, og fordelene med økt sensitivitet ved å måle både anti-GAD og anti-AI2, anbefaler Hormonlaboratoriet først og fremst å teste for disse to autoantistoffene ved utredning av mistenkt type I diabetes / LADA.

## ANALYSENYTT

### Ny metode for bestemmelse av DHEA fra 16.01.17.

Ny metode er væskechromatografi-tandem massespektrometri (LC-MS/MS).

DHEA blir ekstrahert fra serum, separert fra andre steroidhormoner og interferenser ved hjelp av omvendt-fase LC og detektert med MS/MS. Metoden er utviklet ved Hormonlaboratoriet.

For ny metode vil man forvente et noe høyere måleresultat enn med gammel metode. Forskjellen øker med økende konsentrasjon, og kan være relativt stor for konsentrasjoner >10 nmol/l, mens for lave verdier, < 5 nmol/l, vil man forvente liten eller ingen forskjell mellom LC-MS/MS metode og RIA metode.

### Nye referansegrenser:

#### Jenter/kvinner:

≤ 11 år: < 14 nmol/l

12-49 år: < 27 nmol/l

≥ 50 år: < 20 nmol/l

#### Gutter/menn

≤13 år: < 14 nmol/l

14-40 år: < 27 nmol/l

≥ 41 år: < 16 nmol/l

### Referansegrenser for Tannerstadier:

TS	Jenter	Gutter
I	< 10 nmol/l	< 8 nmol/l
II	< 17 nmol/l	< 13 nmol/l
III	< 26 nmol/l	< 18 nmol/l
IV og V	< 27 nmol/l	< 23 nmol/l

*Kushnir et al (2010), Clin Chem 56, 1138-1147*

*Prøvemateriale:*

0,7 ml serum

*Funksjonell sensitivitet:*

3 nmol/l

*Måleområdet:*

3-400 nmol/l

*Korrelasjon mot tidligere metode:*

r = 0,96

### Akkreditering av flere LC-MS/MS metoder.

Hormonlaboratoriet gir fra januar ut akkrediterte svar for deoksikortikosteron (DOC), 21-deoksikortisol, kortikosteron og 17-OH-pregnenolon. Med dette er alle rutinemetoder analysert med LC-MS/MS teknikk akkreditert.

## Endring i referansegrenser for hCG i serum fra 01.03.2017.

Fra 1. mars 2017 er det felles referansegrenser for hCG i serum ved Oslo universitetssykehus. De nye grensene er etablert fra en nordisk referansepopulasjon.

### Nye referansegrenser:

#### Kvinner 18-45 år

Ikke gravide <0,4 IU/l

Kvinner ≥ 46 år < 6 IU/l

Menn 18-45 år < 0,4 UI/l

Menn ≥ 46 år < 0,5 UI/l

Nytt måleområde for metoden er ≥ 0,4 IU/l. Prøvesvar > 10 000 IU/l blir fortynnet.

### Gråsonverdier i lavt måleområde for metanefrin

På grunn av noe høy analytisk variasjon i lavt måleområde omkring referansegrensen for metanefrin (< 0,33 nmol/l), er resultater i dette området beheftet med noe større usikkerhet.

Hormonlaboratoriet har derfor, fra mars 2017, valgt å etablere en gråson for analysesvar mellom 0,3 og 0,4 nmol/l. Verdier i dette område har usikker klinisk betydning. Ved feokromocytom forventes verdier 2-3 ganger over referansegrensen.

## Nyheter fra forskningen

### Publikasjoner siden sist

- Maria Teresa C. P Ribela, Renata Damiani, Felipe D. Silva, Eliana R. Lima, João E. Oliveira, Cibele N. Peroni, Peter A. Torjesen, Carlos R. Soares and Paolo Bartolini. N-Glycoprofiling Analysis for Carbohydrate Composition and Site-Occupancy Determination in a Poly-Glycosylated Protein: Human Thyrotropin of Different Origins. *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18, 131.
- Krog AH, Thorsby PM, Sahba M, Pettersen EM, Sandven I, Jørgensen JJ, Sundhagen JO, Kazmi SS. Perioperative humoral stress response to laparoscopic versus open aortobifemoral bypass surgery. *Scand J Clin Lab Invest.* 2017 Apr;77(2):83-92.



Postadresse: Hormonlaboratoriet, Oslo universitetssykehus HF, Pb 4959 Nydalen, 0424 Oslo.

Gateadresse: Bygg 23, Aker sykehus, Trondheimsveien 235, 0586 Oslo

Telefon: 22 89 47 08, Telefaks: 22 15 87 96

E-post: [hormonlab@ous-hf.no](mailto:hormonlab@ous-hf.no) Internett: <http://www.hormonlaboratoriet.no>

Hormonlaboratoriet - Facebook: [www.facebook.com/hormonlaboratoriet](http://www.facebook.com/hormonlaboratoriet)

Klinikk for laboratoriemedisin – MBK

Oslo universitetssykehus, Aker

