

RIGSHOSPITALET
Klinisk biokemisk afdeling

September 1988.

UGEKURSUS I KLINISK BIOKEMI

Hensigten med kurset er at introducere kursuddeltagerne til anvendt biokemi. Ved kurset orienteres om forskningsmetodologi, videnskabelige metoder og hjælpemidler. Der gives Øvelser i læsning, fremlægning og vurdering af videnskabelige publikationer.

Der undervises i generelle klinisk-kemiske problemstillinger: normalområder, fysiologiske variationer i biokemiske variable, vurdering af blodprøvesvar og identifikation af fejlkilder.

Den konkrete anvendelse af klinisk-kemiske kvantiteter gennemgås ikke systematisk, men belyses for enkelte områder.

I kursets praktiske del undervises i simple laboratorieanalyser, bl.a. urinmikroskopi samt fremstilling og mikroskopi af hæmatologiske udstrygningspræparater.

Venepunktur og kapillær blodprøvetagning demonstreres, og der er mulighed for praktisk Øvelse i dette på indlagte patienter.

Nogle vigtige tidsskrifter og håndbøger indenfor fagområdet.

Tidsskrifter overvejende omfattende klinisk kemi (teknisk + interpretation):

- American Journal of Clinical Pathology
- Clinic Chimica Acta
- Clinical Chemistry
- Journal of Laboratory and Clinical Medicine
- Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation

Tidsskrifter overvejende omfattende analytisk-tekniske emner:

- Analytical Chemistry
- Analytical Biochemistry

Tidsskrifter overvejende omfattende ren biokemi:

- Biochemical Journal
- Biochimica et Biophysica Acta
- European Journal of Biochemistry
- Journal of Biological Chemistry

Håndbøger:

Textbook of Clinical Chemistry

Norbert W. Tietz, ed.

Saunders co.1986

Methods in Clinical Chemistry

Amadeo J. Pesce

Laurence A. Kaplan Mosby co. 1987

Lærebøger:

- H. Olesen, Kompendium i Laboratoriemedicin, 1988
- Per Fernlund, Arne Hanson, C.-B. Laurell & B. Lundh: Klinisk kemi, 1986
- N.C.S. Heilskov, R. Jordan & Kjeld Jørgensen, Teknologi for Klinisk-kemiske laboranter, 1983.

Noter om

Almen Klinisk BioKemi

Almen klinisk biokemi

Indledning	3
Klinisk kemi	4
Ordination og undersøgelser	4
Tolkning af analyseresultat	4
Nomenclatur og enheder	4
Fysiologiske variationer og prøvetagningsteknikkens indflydelse	8
Prøvematerialet og dets håndtering	9
Analyseprincipper	11
Analysefejl	12
Referenceværdier	13

INDLEDNING

I det følgende er omtalt nogle problemer indenfor faget klinisk kemi, idet hovedvægten er lagt på de forhold, der har særlig betydning for samarbejdet mellem klinik og laboratorium samt betydning for vurderingen af laboratoriesvar, herunder analysenøjagtighed, forekomst af fejlsvar, specificitetsproblemer, fysiologiske variationer i blodets sammensætning osv. Gennemgang af de enkelte komponenter eller komponentgruppers relation til sygdomstilstande hører hjemme i den specielle kliniske kemi og kan i undervisningsperioden kun forventes belyst ved eksempler. Der må her henvises til vedlagte lærebogsliste.

KLINISK KEMI

Klinisk kemi er læren om nøjagtig kvantitering af molekyler i legemsvæsker med henblik på optimal sygdomserkendelse (diagnose, forebyggelse eller behandling). Hvert ord i denne definition af klinisk kemi er væsentligt: En stor del af arbejdet og af begrebsverdenen i klinisk kemi tilstræber således at sikre nøjagtig kvantitering. Ligeledes er molekyle et nøgleord, idet klinisk kemi søger at måle kemisk veldefinerede substanser og ikke summen af multifaktorielle processer. Måling af molekyler i legemsvæsker gør klinisk kemi til en biokemisk disciplin. Faget burde retteligt hedde klinisk biokemi i analogi med klinisk fysiologi, der ikke hedder klinisk fysik. Fagets moderdisciplin er den teoretiske biokemi. At faget beskæftiger sig med legemsvæsker fra syge mennesker understreger, at klinisk kemi er et lægeligt fag, der udøves på sygehuse og i en vis udstrækning i den primære sundhedstjeneste.

Måling af molekyler i urin og blod fra patienter har været udført af læger i århundreder. Det er imidlertid først fra midten af det tyvende århundrede, at denne disciplin centrerer i selvstændige afdelinger (oprindeligt kaldt centrallaboratorier) og gøres til et lægeligt speciale. Baggrunden herfor er den teknologiske udvikling, edb-revolutionen og senest den markante udvikling af biokemi og den molekylære biologi. I princippet kan alle molekyler i dag kvantiteres, og kun økonomiske hensyn begrænser i dag den kliniske kemis analyserepertoire. Med denne baggrund har klinisk kemi til opgave 1) at hjælpe klinikere med at udvælge de molekyler, hvis kvantitering fremmer sygdomserkendelsen, ja ofte afgør diagnosen; 2) at vælge eller udvikle nøjagtige målemetoder for disse molekyler; og 3) at meddele måleresultatet på en for klinikerne utvetydig måde.

Ansvar for den daglige drift og udviklingen af klinisk kemi påhviler læger med uddannelse i klinisk kemi. De fleste klinisk kemiske afdelinger har desuden ansat kemikere med forskellig basisuddannelse (scient., polyt., pharm. m.m.) til at bistå laboratorielægerne. I enkelte tilfælde ledes klinisk-kemiske afdelinger af kemikere.

Afgørende for udøvelsen af klinisk kemi er imidlertid nær føling med på den ene side moderdisciplinen, den teoretiske biokemi, og på den anden side brugerne af klinisk kemi, den kliniske medicin.

Formålet med studenterkurset i klinisk kemi er dels at give den medicinske student en sådan viden om faget, at han/hun som kliniker kan benytte klinisk kemi optimalt med henblik på rationel patientbehandling under hensyntagen til samfundets begrænsede ressourcer, dels at han/hun efter embedseksamen kan starte som reservelæge på en kliniskkemisk afdeling med henblik på at uddanne sig til speciallæge i klinisk kemi, eller at supplere en uddannelse i et klinisk speciale. På grund af det klinisk-kemiske fags dynamik er forskning og udviklingsarbejde et vitalt element i faget og præger mange klinisk-kemiske afdelinger. Studenter og yngre læger arbejder derfor også ofte på klinisk-kemiske afdelinger af interesse for lægevidenskabelig forskning.

ORDINATION AF ANALYSER

Klinisk-kemiske analyser anvendes som andre undersøgelsesmetoder med det formål at yde bidrag til en diagnose eller følge patientens tilstand mhp. prognose og justering af behandling. Det kan være praktisk i en lægekonsultation eller på en klinisk afdeling at have visse rutinemæssige ordinationer af analyser, men som hovedregel bør undersøgelsesplanen lægges efter gennemgang af den enkelte patient. Lægen bør for hver undersøgelse gøre sig ordinationsgrunden klar og have en fornemmelse af, hvilke gener og omkostninger hans ordination eller undladelse af ordination vil medføre.

TOLKNING AF ANALYSERESULTATER

Når analyseresultatet foreligger, vil den kliniske læge bevidst eller ubevidst sammenligne det med resultater fra raske og syge mennesker eller med tidligere resultater fra samme patient. Det er vigtigt, at resultatet af denne sammenligning reflekterer sygdoms/behandlingstilstanden og ikke uvedkommende forhold såsom race, alder, køn, beskæftigelse, faste/ikke faste, medicinpåvirkning af analysen, normal døgnvariation, legemsstilling ved prøvetagningen, andre prøvetagningsomstændigheder (stase, muskelpumpe), forhold vedrørende prøvematerialets behandling, analysevariation, grove fejl eller misforståelser vedr. nomenklaturenheder og referenceintervaller.

Det er den kliniske kemis opgave at lette en relevant tolkning af analyseresultaterne ved at minimere uvedkommende variationer eller fejl fra alle disse kilder. Dette gøres mest hensigtsmæssigt ved at overlade den klinisk kemiske afdeling ansvaret for hele processen fra og med prøvetagning til og med resultatafgivelsen. Vedrørende prøvetagningen kan dette dog i nogle tilfælde være upraktisk. Det er imidlertid den klinisk kemiske afdelings ansvar at fremstille vejledninger, der beskriver prøvetagningen og håndtering af materiale til analyse af de enkelte kvantiteter. I de følgende afsnit gennemgås sådanne almene forhold, som har betydning for tolkning af analyseresultatet.

NOMENCLATUR OG ENHEDER

I klinisk kemi anvendes i reglen nomenklatur og enheder, som er rekommanderet af Dansk Selskab for Klinisk kemi med forankring i internationale organisationers anvisninger. En beskrivelse af et analyseresultat bør efter disse regler inkludere:

- 1) systemet som betragtes. Det kan være hele patienten, patientens blod, plasma, røde blodlegemer, urin m.m. Systemet bør findes in vivo. In vitro fremstillede systemer såsom serum er på vej ud af kvantitetsnomenklaturen men anvendes ofte i analyseprocessen.
- 2) Komponenten. Denne vil typisk være en del af systemet.
- 3) Kvantitetsarten, f.eks. stofkoncentration for antal molekyler/volumen.
- 4) Resultatet, d.v.s. det ved analysen fremkomne måltal.

- 5) Enheden, der nøjere specificerer kvantitetsarten, f.eks. mmol/l.
- 6) Referenceintervallet.

Resultatet af en analyse kan altså angives i følgende skemaform hvor de 3 første kolonner tilsammen er kvantitetens navn.

System--Komponent kvantitetsart, måltal, enhed, ref.interv. p--Natrium-ion, stofk. 140
mmol/l 136-146

Det kan diskuteres, om en eller anden form for analyseusikkerhed samtidig bør angives, men dette er endnu ikke almindeligt.

Følgende forkortelser kan anvendes:

Systemer		Kvantitetsarter	
a	arterielt	antalk.	antalkkoncentration
B	Blod	arb.	arbitrær
Csv	Cerebrospinalvæske	diff .	differens
d	dØgn	enzk.	enzymkoncentration
Ery	Erythrocyt	massefr.	massefraktion
F	Faeces	massk.	massekoncentration
Ercs	Erythrocytter	parfr.	partikelfraktion
f	fastende	rel.	relativ
kap	kapillær		
Lkcs	leukocytter	stoffr	stoffraktion
P	Plasma	stof k.	stofkoncentration
Pt	Patient	stofm.	stofmængde
U	Urin	vol.	volumen
Hgb	Hæmoglobin	volf r.	volumenfraktion
gl. thyr	Glandula thyroidea		
Midt-str.	Midtstråleurin		

Enhedsfaktorer

k	kilo	10^3
m	milli	10
)i	mikro	10^{-6}
n	nano	10
	piko	10^{-12}
f	femto	10^{-15}

Det tilstræbes at angive stofmængde i mol. Når molekylvægten ikke er kendt, eller når man i øvrigt finder det hensigtsmæssigt, kan man angive stofmængde i masseenheder (gram) eller undertiden som mol af funktionelle grupper, centrale atomer eller lignende. Koncentration f.eks. stofk. eller massek. udtrykkes altid per liter, f.eks. mol/l eller g/l. Ønskes en enhed af en anden størrelsesorden anbringes faktorsymbolet i tælleren, altså mmol/l (i stedet for mikromol/ml). Arbitrære enheder er enheder, der kun defineres ved den anvendte måle- eller beregningsmetode. I de tilfælde, hvor en koncentration angives i forhold til det normale, vil koncentrationsangivelsen også have arbitrær karakter, idet valget af en normalværdi vil være ret vilkårlig. Dimensionsløse størrelser må altid karakteriseres nærmere, angives koncentrationen af størrelsen A ved brøken dele A/ dele i alt, må det anføres, om det drejer sig om vægtdele, rumfang eller andet.

Enzymer angives i arb.enh. (U), der er defineret ved den mængde enzym, der vil katalysere omdannelsen af 1 mikromol substrat per minut under standardiserede betingelser. Alternativt anvendes enheden katalytisk aktivitet d.v.s. mol omsat substrat per sekund under standardiserede betingelser (katal). Det skal her erindres, at det, der i daglig tale omtales som et enzym i f.eks. serum, i virkeligheden oftest er en blanding af såkaldte isoenzymer, d.v.s. enzymer der nok kan angribe samme substrat, men som i Øvrigt er kemisk forskellige og kan adskilles ved f.eks. elektroforese. Isoenzymerne kan have forskellige pH optima, aktivatorer etc. og det antal arb.enh., enzymenheder, man finder for de to serumprøver kan godt være det samme i et målesystem mens man i et andet målesystem med samme substrat kan finde vidt forskellige værdier, fordi et af isoenzymerne inde i den ene serumprøve her bliver særligt begunstiget. Andre eksempler på arbitrære enheder kan nævnes. F.eks. vil angivelsen af resultatet af SR være arbitrær, fordi værdien f.eks. angivet **i mm i 1 time** vil være helt afhængig af måleomstændighederne, især SR-rørets højde.

Når arb.enh. foreligger, må man for at kunne vurdere et analyseresultat have kendskab til målemetoden. Rent praktisk kan det dog for klinikerens være umuligt at overskue dennes detaljer, og det er derfor mere praktisk at sammenholde resultatet med et angivet referenceområde.

I en del tilfælde må man angive koncentrationer i relativ arbitrær stofkoncentration, f.eks. som "fraktion af det normale" eller patient/normal-forholdet. Det gælder for mange koag.faktorer i plasma og har tidligere også været almindeligt for de egentlige plasmaproteiner. En sådan kvantitetsart afspejler ukendskab til de kemiske forhold vedrørende de komponenter eller processer, man Ønsker at beskrive. Ved anvendelsen af patient/normal-forholdet sammenligner man virkningen af patientplasma med virkningen af forskellige fortyndinger af "normalt plasma" i ensartede, men ufuldstændigt definerede målesystemer.

I de senere år har man ved Øget kendskab og brug af immunokemiske teknikker og syntetiske substrater kunnet kvantitere visse af koagulationsfaktorernes egenskaber på lignende måde som i den almindelige kliniske kemi. Anvendelse af patient/normalforholdet bør såvidt muligt undgås, alene fordi normalbegrebet ikke kan defineres entydigt. Hvis en sådan kvantitetsart anvendes, bør man så vidt muligt forankre "normalværdien" til internationalt anerkendte standardplasmapræparationer.

Resultatet af kvalitative analyser angives ved enten 0 (ingen reaktion) eller i (reaktion). Undertiden udvides kvalitative analyser til grove, kvantitative bestemmelser, hvor resultatet bør angives som et tal med enheder og ikke som 0, +, ++, eller +++.

FYSIOLOGISKE VARIATIONER I BLODETS SAMMENSÆTNING OG PRØVE-TAGNINGSTEKNIKKENS INDFLYDELSE

Det er fra forskellige sider vist, at 10-15% af plasmavandet filtreres ud i ekstremiterne og abdomen hos normale personer ved overgangen fra liggende til stående stilling. Dette betyder, at der kommer tilsvarende stigninger i blodets koncentration af celler, proteiner og alle proteinbundne stoffer. Koncentrationsændringerne indtræder i løbet af 1215 minutter efter overgang fra liggende til stående stilling, efter noget længere tid, ca. 20-30 minutter, ved overgang fra stående til liggende stilling. De almindelige blodprøvetagningsstillinger er siddende eller liggende, en ændring mellem disse stillinger medfører en ændring i makromolekylernes plasmakoncentration på 5-10%.

Ved sammenligning af analysesvar fra dag til dag hos samme patient er det derfor vigtigt, at patienten indtager samme stilling, hver gang blodprøverne tages. I det daglige kliniske arbejde er det i reglen ændringer i hæmoglobinværdierne, der er mest iøjnefaldende, men ændringerne gælder som anført alle proteiner og proteinbundne stoffer. For flere stoffers vedkommende forekommer der andre former for fysiologisk variationer over døgnet (f.eks. cortisol: rytmiske produktionsændringer, glucose: måltidsberoende osv). Faste regler kan her ikke gives. Det er som helhed mest hensigtsmæssigt at tage blodprøver som fastebloodprøver, også for at undgå en iøvrigt betydningsløs postprandial **lipidæmi** til tider generende indflydelse på analysegangen. Endvidere at tage dem på samme tidspunkt af døgnet og med patienten i samme legemsposition fra dag til dag. Prøvetagningens indflydelse: Efter anlæggelse af en staseslange på en ekstremitet sker der en delvis aflukning af de overfladiske vener, hvorfor plasmavandet straks begynder at filtrere ud i vævet. En "almindeligt" anlagt stase bevirker en stigning i proteinernes plasmakoncentration på 5-8% efter 2,5 minut og 8-10% efter 10 minutter. Man skal derfor bruge kortvarig stase. Øvede laboranter anvender sædvanligvis 0,5 - 1 minuts stase, hvorfor de nævnte ændringer næppe er af større omfang i almindelig hospitalsrutine. Patienterne opfordres ofte til at "pumpe" med hænderne for at øge venetrykket. Dette øger dels vandudsivning, og dels kommer der ofte en betragtelig (50-60%) stigning i plasmakalium, fald i base excess og så videre. Man bør derfor undlade at lade patienterne bruge muskelpumpen.

PRØVEMATERIALET OG DETS HÅNDTERING

Blod, plasma, serum:

Normalt foretages undersøgelser på perifert blod. Det må her huskes, at blodets sammensætning ikke er den samme overalt i organismen, ligesom det blod, der udtages fra en given vene, kan ændre sammensætning, uden at tilsvarende ændringer er sket i andre karområder. Ligeledes skal det huskes, at blodet, der løber i et givet blodkar ikke udgør en homogen blanding på grund af laminare strømninger. Der skelnes sædvanligvis mellem 3 slags perifert blod, arterieblod, kapillærblod og veneblod. Arterieblod er principielt at foretrække, i hvert fald bedst til vurdering af f.eks. ilt og kuldioxid parametre, men da arteriepunkturner er vanskelige at tage og ubehagelige for patienten, vælges som regel kapillær- eller veneblod. Kapillærblod taget fra Øreflip, fingerpulpa eller hos spæde fra hæl ved anvendelse af megen pressen for at få blodet frem er uanvendeligt for de fleste formål, fordi forholdet mellem blodlegemer og plasma, blodlegemer, plasmaprotein og ultrafiltrat **ændres** betydeligt. Tages kapillærblod derimod fra hyperæmiseret hud ved et indstik, der er dybt nok til at give livlig dråbedannelse, og spildes de første dråber, vil det blod, man får, i virkeligheden være arterieblod, der derfor kan anvendes i stedet for arterieblod. Kapillærblodprøver er bekvemme for patienten, men der kræves en del Øvelse til at udføre blodtagningen tilfredsstillende, og man kan kun få nogle hundrede mikroliter blod per gang. Oftest er det mest praktisk at tage blodprøver som veneblod fra en perifer vene. Fremgangsmåden kan skitseres således: Man anlægger stase og udvælger sig det sted hvor man vil stikke. Stasen aftages igen, mens man tager kanylen og glas frem, derpå anlægges igen kortvarig stase, og blodtagningen udføres hurtigst muligt d.v.s. at der anvendes en passende tyk kanylen. Mange steder anvendes nu lukkede blodtagningssystemer med evakuerede rør. Ved sådanne systemer kan stasetiden og kanylestørrelsen mindskes og endvidere anses de at medføre en mindre smitterisiko for personalet. Til nogle formål må blodet tages med anaerob teknik, det skal her bemærkes, at man kan tage kapillærblod anaerobt, når bloddråbedannelsen er tilstrækkelig livlig og pipettespidsen holdes inde i dråben. Blod, der flyder hurtigt ud af en kanylen og ned langs siden i et glas, ændrer ikke sine blodgasforhold mærkbart, hvorimod senere rystning i kontakt med luft kan give afgørende fejl.

Til mange formål må det udtagne blod stabiliseres. Koagulationen kan hindres ved tilsætning af heparin, oxalat, citrat eller ethylendiamintetraacetat (EDTA). Koagulationsfaktorer kan bevares ved at tage blodet i specielle plastkrør eller silikonebehandlede glas. Glucolysen kan hæmmes ved tilsætning af fluorid, og enzymatiske processer kan i øvrigt hindres, ved at blodet tages direkte ned i et proteinfældningsmiddel, eller ved at blodet straks efter udtagningen køles ned. Det er i nogen af tilfældene indlysende, at en given stabiliseret blodprøve blive uegnet til visse analyser f.eks. blod taget i rør med kalium EDTA eller natriumcitrat ikke anvendes til bestemmelse af henholdsvis kalium og natrium koncentrationen i patientens plasma.

Blodets opbevaring inden analysen udføres, kræver i mange tilfælde også opmærksomhed. Ved henstand og under forsendelse, kan der komme hæmolyse, specielt ved temperatur omkring

frysepunktet, men også uden synlig hæmolyse kan der gå stoffer fra erythrocytter til plasma, f.eks. kalium, og en sådan udsivning synes at fremmes ved koagelretraktionen. Ved koagulationen kan også kalium frigøres fra trombocytter. Kaliumkoncentrationen i serum er derfor i reglen højere end i plasma. Som en detalje kan bemærkes, at udsivning af kalium fra de røde blodlegemer sker hurtigere ved 4°C end ved stuetemperatur, sandsynligvis på grund af svigtende natrium kalium pumpe ved 4°C. Fraskilt plasma eller serum tåler heller ikke altid opbevaring mere end få timer. Dette gælder f.eks. mange koagulationsfaktorer og andre enzymsystemer, hvor holdbarheden er begrænset, selv når prøven opbevares nedkølet eller nedfrosset. For de fleste rutinemæssigt analyserede kvantiteter tåler plasma eller serum dog, at transporteres eller opbevares ved 4°C i et døgn og meget længe ved -20°C eller -70°C. Disse forhold må studeres for den enkelte komponent og analysemetode og helst fremgå af laboratoriets vejledninger. Ved henstand af biologisk materiale må man i øvrigt altid regne med muligheden for tilfældig infektion af prøven.

Urin

Ved urinundersøgelser kan det undertiden være af interesse blot at bestemme koncentrationen af et givet stof, hvilket især gælder i det tilfælde, hvor det søgte stof ikke normalt forekommer i væsentlige mængder (eksempler: glucose, bly). Andre gange vil man være interesseret i at få bestemt et stofs udskilleleshastighed, ofte angivet med udskilt døgnmængde, hvorfor diuresen da må bestemmes nøjagtigt. Det skal erindres, at det er meget vanskeligt at sikre sig, at man har opsamlet al den ønskede urin, og det er vanskeligt også at afgøre, i hvilket tidsrum den opsamlede mængde i virkeligheden er udskilt af nyrerne. Man må altid ved urinprøver have sikret sig, at prøven ikke indeholder tilblandet vaginalsekret etc. Ved kateteruriner må man altid forvente en tilblanding af blod på grund af slimhinde læsioner.

Ved henstand og afkøling ændres urinen som oftest, dels kan der komme forskellige udfældninger, især på grund af afkøling men også som følge af infektion, og dels kan der ske vækst af bakterier og svampe, hvilket dog hæmmes ved afkøling. Bedst er det at opbevare den samlede urin kold for derfor at foretage en grundig omrøring af det eventuelle bundfald, lige før der udtages **prøver** til laboratoriet. I øvrigt må man orientere sig om det benyttede analyselaboratoriums vejledninger for urinopsamling, konservering m.v.

ANALYSEPRINCIPPER

At bestemme den nøjagtige mængde af et givet stof i en biologisk prøve, dvs. en blanding af dels ukendte stoffer, er en uhyre kompliceret opgave, der aldrig kan blive rutinearbejde. Når der dagligt skal laves mange analyser af vidt forskellig art, og når nogle analysesvar skal foreligge i løbet af meget kort tid (hasteprøver), må man på forhånd slække på kravene til metodernes specificitet og nøjagtighed. Man må forudsætte, at der ikke i prøvematerialet findes andre stoffer end det søgte, som giver den anvendte reaktion, evt. efter en vis grov separering, og at der ikke er stoffer, som hæmmer denne reaktion, eller at forekomsten af sådanne stoffer i hvert fald kan regnes for konstant fra **prøve** til prøve. Disse antagelser kan naturligvis svigte for en given patient, f.eks. på grund af indtagne medikamenter eller komplicerende sygdomme. Undertiden må man tage hensyn til, at analysen skal kunne udføres på en lille prøvemængde (kapillærblod). I nogle tilfælde kan man klare sig med grove metoder, måske endog med kvalitative analyser, f.eks. til at verificere en klinisk diagnose, mens man i andre tilfælde må kræve mere nøjagtige svar, f.eks. hvis man skal følge ændringer hos patienten. Laboratorielægen må således vælge sine metoder både ud fra sine konkrete muligheder (personale, apparatur, bevillinger) og ud fra et rent subjektivt skøn over, hvor meget der bør ofres på en given analysemetode under hensyntagen til dens kliniske værdi. Sjældne eller særlig svære analyser kan centraliseres på enkelte laboratorier. En vis standardisering af metoderne laboratorierne indbyrdes kan rumme fordele, men også virke hæmmende på udviklingen af den kliniske kemi. Et stort antal analyseprincipper er repræsenteret på en **klinisk-kemisk** afdeling. Specificiteten af analysen kan sikres ved komponentens opførsel i et kromatografi system eller ved brug af enzymatiske processer, antistoffer, komponentspecifikke elektromotoriske potentialer, eller i detektionsleddet vha. karakteristiske spektre. En del mere eller mindre specifikke farvereaktioner lever dog videre i laboratoriet. *Koncentrationen* af en given komponent bliver i mange tilfælde ved analyseprocessen transformeret til et apparatudslag i millivolt, ofte ved brug af fotometri. Udviklingen af de metoder, vi ser anvendt i det klinisk-kemiske laboratorium i dag, har i høj grad været præget af Ønsket om automatisering.

Metoder, der som *målsætning* udelukkende har at bestemme den sande værdi, vil ofte ikke være praktiske, men kan anvendes som såkaldte referencemetoder for rutinemetoderne. For de forskellige komponenter arbejder man internationalt på at etablere sådanne referencemetoder eller et hieraki af sådanne, hvor de mest "sande" ofte kræver stor ekspertise og kun udføres et fåtal steder i verden.

ANALYSEFEJL

For at kunne vurdere et analysesvar, er det nødvendigt for klinikerens at have et kendskab til arten af de analysefejl, der kan forekomme. Analysefejlene kan inddeles i 3 hovedgrupper: 1) Grove, tilfældige fejl, dvs. et fejl - f.eks. forvekslinger. Disse burde principielt kunne undgås. 2) Analyseusikkerhed ("imprecision"), dvs. *analysevariation* som følge af et tilfældigt samspil af mange små faktorer. Analyseusikkerhed er principielt uundgåeligt, men kan begrænses. Størrelsen af den analyseusikkerhed, som kan accepteres, skal bedømmes ud fra komponentens normale inter- og intraindividuelle variation og de tekniske muligheder. Analyseusikkerhed angives ofte som variationskoefficient, dvs. som standarddeviation/middeltal ved gentagne analyser af samme prøve. Alternativt (og bedre) angives både standarddeviation og et koncentrationsniveau eller middeltal, idet standarddeviationen som regel vil være afhængig af, men ikke nødvendigvis være ligefrem proportional med *koncentrationen*, dvs. middeltallet.

Man skelner mellem analyseusikkerhed ved gentagen analyse af samme prøve i samme analyseserie og analyseusikkerhed bestemt ved daglige kontrolmålinger af et stabilt kontrolmateriale. Den sidste usikkerhed er ofte den klinisk relevante. I særlige tilfælde kan man dog udnytte, at reproducerbarheden (præcisionen) er bedre ved målinger indenfor en analyseserie end fra dag til dag. Det gælder f.eks. ved forskningsprojekter. Dette kræver normalt, at prøvematerialet kan opbevares (f.eks. i fryser) uden koncentrationsændringer af den aktuelle komponent. 3) Systematiske fejl ("inaccuracy") er fejl, der går igen på samme måde ved gentagen analyse af en prøve. Som nævnt i afsnittet om analyseprincipper, er det ved valg af analysemetode i laboratoriet vigtigt at tage hensyn til en række andre faktorer end metodens evne til at producere den sande "værdi" af en kvantitet. Ved kvalitetskontrol i laboratoriet vil man dog kunne sikre sig, at analysens sigte ikke ændres, og ved brug af eksterne kontroller og referencemetoder vil man kunne få en opfattelse af retningen og størrelsen af den analysemetodebetingede systematiske afvigelse fra den "sande" værdi. Nogle systematiske fejl lader sig rette ved f.eks. ny indstilling (kalibrering) af analyseinstrumentet og anvendelse af nye reagenser m.v. Andre "fejl" er af mere fundamental natur og skyldes uspecificitet af analysen, hvorved de i nogle grad bliver afhængige af prøvematerialet. Laboratoriet kan være behjælpeligt med oplysninger om, hvilke farmaka eller sygdomstilstande, der vides at kunne introducere systematiske fejl i den aktuelle metode. Klinikerens vil i det daglige arbejde måske kun have en begrænset interesse i den sande værdi, når blot han har et referenceområde, som svarer til metoden, og metoden giver reproducerbare resultater. For at kunne udnytte og deltage i international og national videnskabelig aktivitet vil det dog være af betydning for ham, at analyseresultaterne kan sammenlignes med andre laboratoriers. Den internationale "harmonisering" går i retning af, at man såvidt muligt skal nærme sig den sande værdi. Når dette ikke er muligt, bør man anvende alment vedtagne metoder, som kalibreres med internationale standardmaterialer.

Ved arbejdstilrettelæggelsen af kvalitetskontrol i laboratoriet og ved tilrettelæggelsen i almindelighed af arbejdet forsøger man at undgå de fejl, som det principielt er muligt at undgå. Alligevel vil der af og til blive udgivet fejlagtige analysesvar, både sådanne som kunne være undgået og sådanne som laboratoriet principielt ikke har nogen mulighed for at finde, f.eks. et lægemiddels indflydelse på analyseresultatet. Det sidste og måske vigtigste led i kvalitetskontrollen er den kliniske læges vurdering af, om resultaterne virker rimelige, set i relation til sygdomsbilledet og tidligere analyseresultater. På dette led i kvalitetskontrollen vil forhåbentlig de fleste grove fejl blive opdaget og en ny bestemmelse af den pågældende kvantitet blive rekvireret.

REFERENCEVÆRDIER

Som nævnt tidligere kræver en meningsfyldt tolkning af et analyseresultat, at dette sammenlignes med kvantitetens størrelse hos raske eller syge mennesker, med tidligere resultater fra samme patient eller med andre kvantiteter i patienten målt samtidig. Det er her laboratoriets opgave at fremskaffe og repræsentere analyseresultater fra raske mennesker, som kan sammenlignes med patienten. Sådanne værdier kaldtes tidligere normalværdier, men pga. vanskeligheder ved at definere ordene "normal" og "rask" kalder man nu sådanne værdier for referenceværdier. Referenceværdier bør så vidt muligt være fremkommet ved samme procedure som patientværdier med hensyn til alle de tidligere omtalte faktorer, som kan influere på analyseresultatet. I klinisk-kemiske kredse diskuterer man kriterier for udvælgelse af referencepersoner og de omstændigheder, under hvilke prøvetagningen skal udføres. Hvis almene rekommendationer følges og tillige de forskellige laboratoriers analysemetoder, har god accuracy (dvs. sigter på den sande værdi), kan laboratorierne indenfor et område med en kulturmæssig og etnisk ensartet befolkning udveksle referenceværdier. I praksis er der store problemer med at fremskaffe referenceindivider rimeligt fordelt på alder og køn. Subjektivt raske bloddonorer, studenter og laboratoriepersonal er grupper, der ofte udnyttes. Selvom der er sket meget mhp. standardisering og højnelse af analysemetodernes accuracy, vil der stadig ofte være et (uønsket) behov for, at laboratoriet fremstiller sit eget referenceområde.

Med mindre andet er specificeret, bør referenceværdier stamme fra subjektivt friske voksne personer, der for blodprøver har fået taget disse fastende om morgenen i siddende stilling. Hvis kvantiteten varierer betydeligt med alder og køn eller andet, bør man inddele referenceindividerne efter disse kriterier og fremstille referenceintervaller for hver gruppe. Dog bør differentieringen af praktiske grunde ikke overdrives.

En referenceværdi er altså et analyseresultat fra et referenceindivid. Et referenceinterval afgrænser en bestemt del (fraktion) af referenceværdierne. Hvis intet er anført, underforstås, at referenceintervallet rummer de centrale 0.95 (95%) af referenceværdierne, således at de 2,5% største og 2,5% mindste værdier er udenfor intervallet. Man Ønsker at lægge intervallet således, at det rummer 95% af værdierne i den teoretiske fordeling af referenceværdier, hvori de aktuelt fundne referenceværdier

anses at være en stikprøve. Ved forskellige statistiske procedurer og subjektive vurderinger kan man forsøge at skønne over disse teoretiske "intervalgrænser". En forudsætning for et rimeligt skøn er imidlertid altid, at stikprøven (antallet af målte referenceværdier) er tilstrækkeligt stor. Ofte vil der i et laboratoriums referenceintervaller være sket en afvejning mellem egne referenceværdier og værdier i litteraturen eller værdier fra andre hospitaler, som anvender lignende metoder. Et analysesvar, der falder udenfor referenceintervallet, er nok unormalt, for så vidt som det afviger statistisk signifikant fra referenceværdierne, i dette tilfælde på 0.05niveaue. Men deraf følger ikke, at det har nogen patologisk betydning. Svaret kunne jo stamme fra en normal person (referenceperson), nemlig fra en af dem, vi vilkårligt har udelukket fra referenceintervallet ved vort valg af 0.95-grænserne. Ved analyse af 10 uafhængige kvantiteter hos en normal person (referenceperson) skulle sandsynligheden for, at alle værdier ligger indenfor de respektive referenceintervaller være 0.60 (0.95^{10}). Sandsynligheden for mindst 1 resultat udenfor et referenceområde er altså 0.4. Dette **bør betænkes**, når et stort antal analyser rekvireres på samme patient. Men sandsynligheden for at en normal person har værdier udenfor referenceintervallet aftager naturligvis hurtigt, jo længere vi kommer fra intervallets grænser. Her må supplerende undersøgelser hjælpe os til en klinisk konklusion. Finder man hos en patient en værdi, der ligger indenfor referenceintervallets grænser, har man dermed intet påvist om, at der ikke er noget i vejen. Enhver patients værdier skal jo egentlig bedømmes i forhold til hans egne normalværdier, dvs. de værdier, han ville finde, når patienten med sikkerhed var rask. En patient kan således godt have ret store ændringer i sine værdier, men blot have bevæget sig fra den ene ende af referenceintervallet til den anden, og dette kan meget vel være patologisk. For en funden værdi i referenceintervallet er man således **ikke i** stand til deraf at udtale sig om, hvor stor sandsynligheden er for, at patienten er normal mht. den undersøgte størrelse. Patienten kunne jo meget vel høre til en fordeling af patologiske værdier, dvs. værdier målt på syge personer, der havde stor overlapning med fordelingen fra referencepersonerne. Man må da nøjes med at konstatere, at det ikke ved den pågældende undersøgelse er lykkedes at sandsynliggøre, at der foreligger en patologisk tilstand.

Analysens egnethed til at be- eller afkræfte en diagnose kan beskrives med følgende begreber:

Sensitivitet: Antal individer med abnormt analyseresultat/antal af individer med given sygdom.

Specificitet: Antal individer med normalt analyseresultat/antal individer uden given sygdom.

Prævalens: Antal syge individer/antal undersøgte individer. "Prædictive value": f.eks.

sandsynligheden for, at en patient med et abnormt analyseresultat er syg: Antal syge individer/antal individer med abnormt analyseresultat.

En nærmere gennemgang af disse begreber findes i det udleverede materiale fra den svenske lærebog i klinisk kemi. Det skal bemærkes, at disse begreber er klinisk orienterede. En rimelig god analysekvalitet vil være en nødvendig, men naturligvis ikke en tilstrækkelig betingelse for, at en analyse kan anvendes til diagnostik af en given sygdom. Grænsen for, hvornår man betragter et analyseresultat som abnormt i denne sammenhæng, afhænger af mange faktorer, f.eks. konsekvenserne af hhv. falske positive eller falske negative udfald. Grænserne behøver således ikke afspejle en referenceintervallgrænse. Det skal bemærkes, at oplysninger om sensitivitet og specificitet af en given analyse i relation til en given sygdom ofte kan fås i litteraturen, idet disse begreber refererer til analyse af adskilte grupper af syge og normale mennesker. Derimod vil begrebet prædictive value, som er det for klinikerer væsentlige, afhænge af sygdommens prævalens og dermed de lokale forhold.

Noter om

Urinundersøgelser

Rigshospitalet Klinisk-kemisk afdeling KK

Dato: 1989-02-28

Kristian Linnet/el

Urinundersøgelser

Urinundersøgelse foretages i dag rutinemæssigt med stix, som er imprægnerede papirstrimler, der kan skifte farve efter neddykning i urin. Sernikvantitativ koncentrationsbestemmelse af albumin, glucose, hemoglobin, ketonstoffer og neutrocytter foretages. Endvidere kan bakterier påvises, og endelig kan pH måles.

Prøvemateriale

5 ml urin opsamles i et plastrør uden tilsætning (KLM-84). Urin, der ikke undersøges umiddelbart, bør opbevares ved 4 °C.

Fremgangsmåde

Den pågældende stix dyppes hurtigt i urinen og overflødig urin stryges af (se figur). Efter et angivet tidsrum sammenlignes den udviklede farve med en farveskale, hvorved koncentrationen fås. Det er vigtigt nøje at følge brugsanvisningen. På markedet findes stix til bestemmelse af enkeltkvantiteter og kombinationer af flere kvantiteter.

U--Acetoacetat, stof k. (skala: 50,5-2-7->_10 mmol/l)

Princip: Teststrimlen er imprægneret med natriumnitroprussid, der med stoffer indeholdende ketogrupe (acetoacetat og acetone) udvikler en violet farve. Urinen skal være friskladd.

Referenceinterval: <0,5 mmol/l.

Fejlkilder: Falsk forhøjet resultat kan ses ved tilstedeværelse af fenyketoner, der forekommer i visse afføringsmidler.

U--Albumin, stof k. (skala: 53-4-15->30 umol/l)

Princip: Teststrimlen er imprægneret med en syre-base indikator med den egenskab, at baseformen bindes til visse proteiner, især albumin. Tilstedeværelse af albumin forskyder herved ligevægten syre ± base + H⁺ mod højre, og der indtræder et farveskift.

Referenceinterval: <3 umol/l.

Fejlkilder: Kontaminering med blod og genitalsekret.

2

U--Bakterier, NO₂-producerende, antalk. (skala: <0,1->0,1x10⁹/l)

Princip: Teststrimlen reagerer med nitrit dannet i blæren ud fra nitrat af NO₂-producerende bakterier.

Referenceinterval: <0,1x10⁹/l.

Værdier over referenceintervallet ses ved urinvejsinfektion med NO₂-producerende bakterier, hvilke udgør ca. halvdelen af de ved urinvejsinfektion forekommende bakterier.

Urinen opsamles tidligst 4 timer efter forrige miktion, f.eks. morgenurin. Urinen analyseres inden 4 timer.

Antibiotika seponeres i 3 døgn før urinopsamling.

U--Glucose, stofk. (skala: < 2-3-5-15-230 mmol/l)

Princip: Enzymerne glucoseoxidase og peroksidase er sammen med en reduceret kofaktor imprægneret på strimlen. Glucoseoxidase katalyserer glucosens omdannelse til gluconsyre og hydrogenperoxid, der via peroksidase ilter den reducerede kofaktor til et violet farvestof. Referenceinterval: <_2 mmol/l.

Fejlkilder: Falsk lav koncentration kan skyldes tilstedeværelse af ascorbat i høj koncentration. Falsk forhøjede resultater kan skyldes oksiderende stoffer i visse vaskemidler (når patienten medbringer uringlas hjemmefra).

U--Hemoglobin(Fe), stof k. (skala: s10-20~100-> 300 umol/l)

Princip: En organisk hydroperoksidforbindelse og en reduceret forbindelse er imprægneret på strimlen.

Hemoglobins pseudoperoksidaseaktivitet vil katalysere iltningen af den reducerede forbindelse, som herved skifter farve. Erythrocytter, som kommer i kontakt med stixen, lyseres. Referenceinterval: <_10 nmol/l.

Urinen skal blandes godt for at opslemme evt. tilstedeværende erythrocytter før stixen neddyppes.

Fejlkilder: Ascorbat i høj koncentration hæmmer reaktionen. Falsk forhøjet resultat ses ved indhold af rengøringsmidler i uringlasset. Myoglobin reagerer også med stixen.

U--Neutrocytter, antalk. (skala: <10-20-75- >200x10⁶/l)

Princip: Neutrocyttesterase katalyserer omdannelsen af et substrat på strimlen, hvorved der udvikles en farve.

Referenceinterval: <10x10⁶/l.

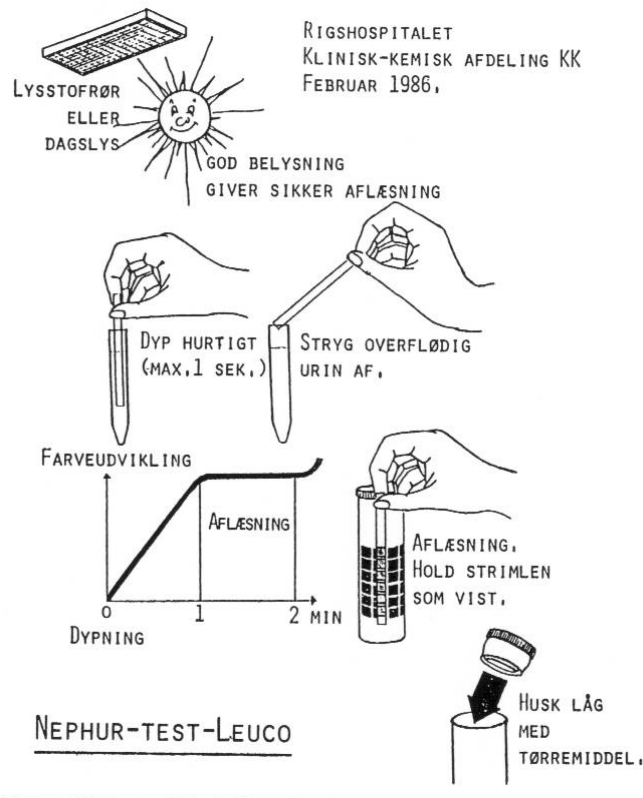
Hos kvinder er der ofte neutrocytter fra vaginalsekret, hvorfor midtstråleurin eller urin opsamlet fra kateter foretrækkes.

Fejlkilder: Udtalt albuminuri og høj ascorbat-koncentration hæmmer reaktionen.

U--pH (skala: 5-6-7-8-9)

Princip: Indikatorpapir. Referenceinterval: 5-6.

Værdier over referenceintervallet (pH 7-8) ses ved urinvejsinfektion.



U--Neutrophilocyter, antalk.

skala:	< 10	20	75	> 200	10 ⁶ /l
Leukocyter	0	1	2	3	
		ca. 10-25	ca. 75	ca. 500	x10 ⁶ leuko/l

U--Bakterier, NO₂⁻-producer., antalk.

skala:	< 0,1	> 0,1	10 ⁹ /l
U-nitrit	neg,0	+1, pos.	

U--pH

skala:	5	6	7	8	9
U-pH:	5	6	7	8	9

U--Glucose, stofk.

skala:	< 2	3	5	15	> 30	mmol/l
U-glukos	norm,0	+1	++2	+++3	++++4	
		2,8	5,6	16,7	55,5	mmol/l

U--Albumin, stofk.

skala:	< 3	4	15	> 30	µmol/l
U-albumin	neg,0	+1	++2	+++3	
		0,3	1	5	g/l

U--Hemoglobin(Fe), stofk.

skala:	< 10	20	100	> 300	nmol/l
U-erythrocyter	neg,0	+1	++2	+++3	
		ca. 5-10	ca. 50	ca. 250	x10 ⁶ ery/l
U-hemoglobin	från	+1	++2	+++3	
		ca. 10	ca. 50	ca. 250	x10 ⁶ ery/l