

Metodeutvikling: samarbeid mellom laboratoriet og klinisk avdeling

Bjørg Almås
FoU-leder, dr.scient
Hormonlaboratoriet
Haukeland Universitetssykehus

Hormonlaboratoriet, Haukeland Universitetsykehus

- Landets eldste
Hormonlaboratorium
- Ca 50 forskjellige analyser

Rutineanalyser:

- Seksjon for automat- og
spesialanalyser (immunokjemi)
- Seksjon for kromatografiske
analyser og massespektrometri



FoU

- **Utvikling av
massespektrometriske analyser
(LCMSMS).**

Nye metoder: samhandling mellom laboratoriet og klinisk avdeling

- Retningslinjer, nasjonale og internasjonale
- Direkte kontakt mellom klinikk og laboratorium
- Forskning og ny kunnskap



Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry: LCMSMS

Analyseprosess

1. Prøveopparbeiding/forbehandling
(robotisert)
2. Kromatografisk separasjon
(HPLC/UPLC)
3. Analyse/deteksjon
(massespektrometer)
4. Resultatbehandling



LCMSMS på rutinelaboratoriet

- Dyrt utstyr, flere komplekse instrumentenheter
- Lang metodeutvikling, ressurskrevende
- Kompleks metode (fire trinn, kan være tidkrevende)
- Kompetansekrevende

Hvorfor.....?

LCMSMS

- Gullstandard
 - Direkte fysikalsk målemetode, svært sensitiv og spesifikk
 - Standardisering mellom laboratorier enklere
 - **Økt kvalitet, pasientsikkerhet**
- Viktig for laboratoriets utvikling og visjoner
 - Kreves for publisering av studier med steroidmålinger i vitenskapelige tidsskrifter
 - Kan ofte måle flere analytter i samme «run» (multipleksing, metabolomics, profilstudier)
 - Effektiv utnyttelse av prøvemateriale

Hormonlaboratoriet: Rutinemetoder LCMSMS

Nåværende metoder

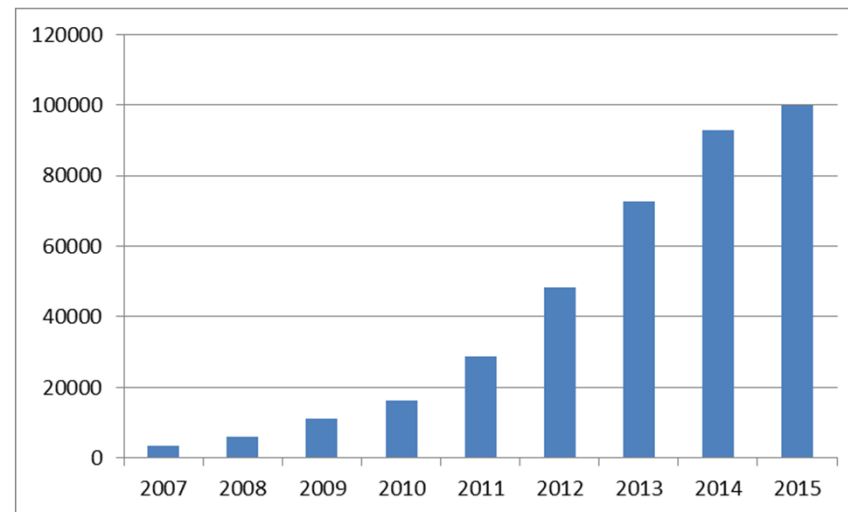
- Kortisol spytt (2008)
- Kortisol urin (2008)

- S-25(OH) VD (2009)

- S-Testosteron (2011)
- S-Androstendion (2012)
- S-11-DOC (2013)
- S-17-OH-progesteron (2013)
- S-Progesteron (2013)
- S-Kortisol (2013)

I tillegg prednison, prednisolon og dexamethason

- 5-HIAA (døgnurin)



Antall prøver analysert for s-25(OH)VD

Hormonlaboratoriet: Rutinemetoder LCMSMS

Under utvikling

- Østradiol
- Aldosteron
- Steroidpanel i spytt

- Metanefriner (urin, plasma)



Metodeutvikling: østrogenpanel



Recommendations:

- The assays need to be sensitive, specific, accurate, and precise over a wide concentration range and need to:
- Measure E2 at very low concentrations. For patients with aromatase inhibitors, methods need to distinguish between suppressed levels of **less than 3,7 pmol/L and pretreatment levels that are commonly 37–55 pmol/L**.
- Precision sufficient to characterize status and identify response to treatment. For treatment with aromatase inhibitors: methods should be sufficiently precise to **distinguish between levels of less than 3,7 and 18,4 pmol/L**.
- Measure reliably over a wide concentration range (< 18,4-11000 pmol/L)
- Have a high specificity for E2. More than 100 conjugated and unconjugated metabolites. Patients may also have circulating estrogens derived from exogenous sources.
- Provide accurate results that are comparable among different laboratories so that the data can be pooled to formulate clinical guidelines and allow results from individual patients to be compared with these guidelines.

[Challenges to the Measurement of Estradiol: An Endocrine Society Position Statement](#)

William Rosner, Susan E. Hankinson, Patrick M. Sluss, Hubert W. Vesper, and Margaret E. Wierman

Rutineanalytter:

- 17-beta-Østradiol (heretter kalt østradiol), østron, etinyløstradiol (kun klinisk indisert med ja/nei)

Forskningsanalytter:

- Østriol, østron-sulfat, østron, østriol, sulfat, estron sulfat

Klinisk nytteverdi:

- Østradiol; utredning av blødningsforstyrrelser, klimakterium, pubertet, gynekomasti, oppfølging av pasienter på aromatasehemmere.
- Østron: Utredning av pubertetsstart
- Etinyløstradiol: Ønske fra gynekologene. Vil angi inntak av p-piller.

Forskning:

- Østron-sulfat: Angir «lager» av østron, mulighet for medikamenter som påvirker sulfoneringen av østron i behandling av bla. brystkreft.
- Østriol: Inngår i screening mht. kromosomavvik. Ikke ønsket av gynekologene

Utfordringer/muligheter.....

- Ny metodologi, nye referanseområder og kliniske cut-off



- Ny kunnskap...



- I multianalytt-metoder kan vi se flere prøvesvar enn det rekvirenten har etterspurt....



Referanseområder med LCMSMS en utfordring

- Referanseområder er publisert på flere steroidhormoner analysert med LCMSMS-metode.
- Referansepopulasjonene er til dels mangelfullt karakterisert på viktige parametere (f. eks fedme), og dårlig stratifisert med hensyn på alder.
- Antall individer i de oppgitte subgruppene er også ofte lavt.
- Et referanseområde skal speile befolkningen som analysene utføres på
- **Referanseområder for LCMSMS utarbeidet på norsk populasjon er mangelvare!**

Prosjekt

Hensikt:

- Å etablere norske referanseområder for steroidhormoner og bindeproteiner stratifisert for alder, kjønn og kroppsmasseindeks.
- Å se på forskjeller i steroidprofiler i individer med høy/lav kroppsmasseindeks, samt relatere disse til steroidregulerende hormoner.
- Se på forskjeller i estimert fri fraksjon av steroidhormoner i relasjon til alder/kjønn/BMI

Samarbeid med UiT.

Analyse av serum innsamlet i Tromsø 6 (voksne) og FitFutures (ungdom) undersøkelsene.

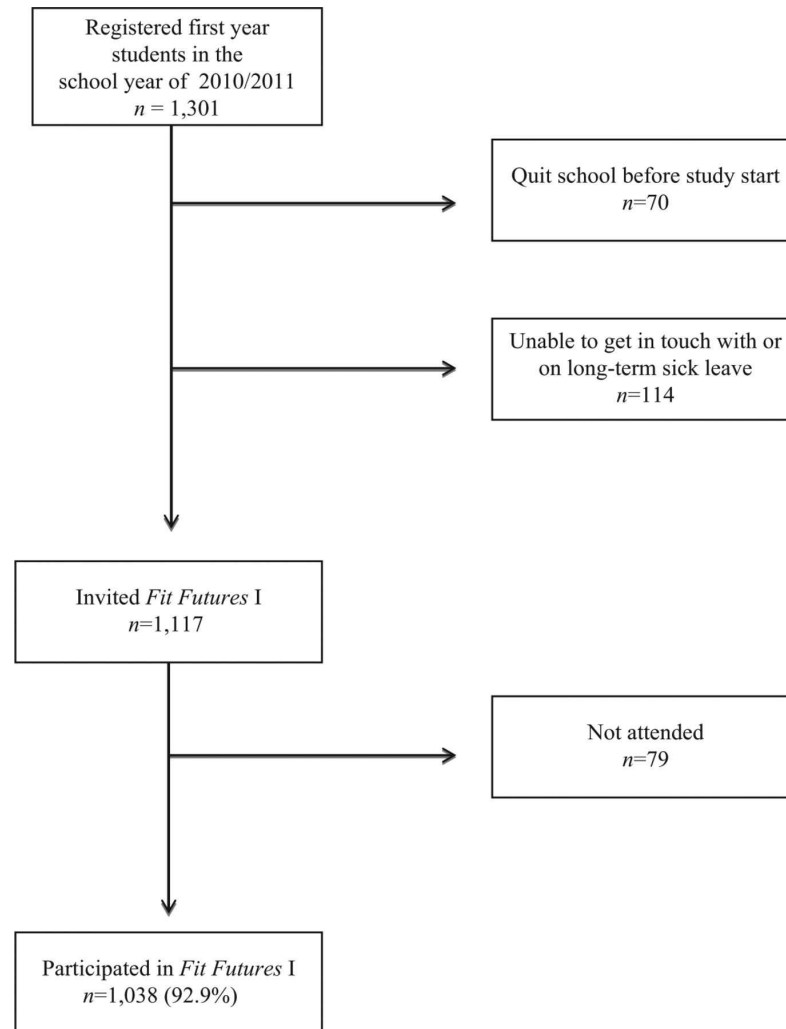
Gjennomføring:

Analyser:

- Steroidpanel
- Peptidhormoner (LH/FSH)
- bindingsproteiner (albumin,SHBG)
- Normalområder for en norsk befolkning etableres
- Beregning av fri fraksjon
- Sammenheng mellom steroidprofiler og overvekt/alder studeres
- Målte data relateres til menstruasjonsstatus og blodtrykkstatus

Utvalg FitFutures

Figure 1. Flow-chart of the study selection process in The Tromsø Study: Fit Futures .



Öberg J et al. Scand J Public Health 2014;42:593-602

Utvalg Tromsø 6

| Kvinner | BMI < 24,9 | BMI 25-29,9 | BMI > 30 | |
|----------------|---------------|----------------|-------------|-----------------|
| 30-40 år | 120 | 120 | 120 | |
| 41-60 år | 120 | 120 | 120 | |
| > 60 år | 120 | 120 | 120 | |
| Totalt | 360 | 360 | 360 | 1080 stk |

- Voksne 30+

| Menn | BMI < 24,9 | BMI 25-29,9 | BMI > 30 | |
|---------------|---------------|----------------|-------------|-----------------|
| 30-40 år | 120 | 120 | 120 | |
| 41-60 år | 120 | 120 | 120 | |
| > 60 år | 120 | 120 | 120 | |
| Totalt | 360 | 360 | 360 | 1080 stk |

- Voksne 30+

LCMSMS: Nye referanseområder

- Utarbeides, statistiske beregninger
 - Sammenlikning med data fra «egen» populasjon
- Pasientdata (fra allmennpraksis) kan anvendes til verifisering av referanseområde
 - For LCMSMS: pasientdata kan innhentes fra egenutviklet database (R. Kellmann) på ikke-rekvirerte analytter.
 - Omvendt Hoffmann.

[Easy verification of clinical chemistry reference intervals.](#)

Bolann BJ.

Clin Chem Lab Med. 2013 Jun 27;51(11):e279-81. doi: 10.1515/cclm-2013-0356.

PMID: 23807673

Endring i kliniske cut-off verdier

- Endring i metode/referanseområde kan medføre endring i kliniske cut-off og tester
- Kommunikasjon med kliniske avdelinger viktig!

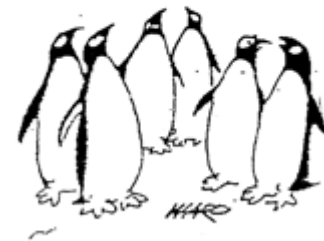
- Dexamethason
- Synacthen

Prøvesvar, kvalitetssikring.

- I multianalytt-metoder kan vi potensielt se flere prøvesvar enn det rekvirenten har etterspurt....
 - Kan avdekke patologi, men også laboratoriefeil, som feilpipettering mm
- s-kortisol < 75 nmol/L (ringegrense): øvrige analytter integreres, inkludert dexametason og prednison/prednisolon.
 - Evt også ved s-kortisol under nedre referansegrense eller etter annen medisinsk vurdering.

Konklusjon:

Samspillet mellom laboratoriet og klinikken er vesentlig for et godt resultat ved utvikling og implementering av nye metoder



-Vi har sagt til ham at det var umulig, men han ville ikke høre

Takk for meg!