

Cortisol

Enkeltstående, dansk EQA-program til undersøgelse af rutineanalysemetoder til cortisol

Indhold

Indhold	1
Antal deltagere.....	1
Resume	1
Materialer.....	3
Metoder	4
Analyseinstrumenter og metodegrupper.....	4
Referenceværdier, ”target”	4
Acceptgrænser.....	4
Resultater og diskussion.....	5
Prøver med lav koncentration	5
Alle øvrige prøver.....	6
Konklusion.....	7
Referencer	7
BILAG A	8
Numerisk rapport for metodegrupper.....	8
BILAG B.....	11
Afvigelse fra referenceværdierne for instrumentgrupper	11
BILAG C.....	13
Vejledning i tolkning af grafik	13
BILAG D	14
Cortisolprojekt 2018, DSKB, DES og DEKS. ANBEFALING	
Rutineanalyse af cortisol i serum og plasma	14

Antal deltagere

15 laboratorier har indsendt resultater på 10 udsendte prøver fra i alt 22 instrumenter. Dette EQA-program omfatter hermed alle de laboratorier i Danmark som analyserer cortisol.

Resume

Resultatet af dette EQA-program demonstrerer at det er muligt at indføre fælles cut-off-niveauer ved funktionstest og fælles beslutningsgrænser ved analyse af patientprøver.

På den baggrund er udarbejdet en anbefaling, som danner grundlag for ensartet behandling på alle landets sygehuse, se Bilag D.

I Dansk Endokrinologisk Selskab, DES, er der opnået enighed om en fælles cut-off efter ACTH-test på 420 nmol/L, se reference 1, hvor den nationale behandlingsvejledning for binyrebarkinsufficiens kan læses.

Der blev udsendt 10 prøver, alle i relevante niveauer fra både mænd, kvinder, kvinder, som bruger P-piller, og børn.

LC-MS/MS-metoder er meget specifikke og har total dissociation (adskillelse) af cortisol fra bindingsproteiner.

Alle immunkemiske metoder kan fejle i deres specificitet. Alle immunkemiske metoder kan også fejle i deres evne til at dissociere cortisol fra bindingsproteinerne. De to typer fejl er modsatrettede.

Resultaterne i EQA-programmet viser at Roches analysemetode benytter et specifikt antistof og i tillæg er i stand til at dissociere (adskille) cortisol effektivt fra bindingsproteiner. Roches metode kan benyttes i hele det aktuelle analysespektrum, < 50 nmol/L til > 420 nmol/L.

Abbott og Siemens Immulite er kun repræsenteret hver med et instrument i Danmark, men resultaterne viser at de analyserer i et korrekt niveau ved faktiske cortisolkoncentrationer >150 nmol/L.

For Siemens Advia Centaur og Siemens Atellica ses både alt for høje og for lave niveauer. Disse to instrumenters metoder må således mangle specificitet og kun opnå ufuldstændig dissociation fra bindingshormonerne. På baggrund af deres performance i denne undersøgelse kan de derfor ikke anbefales til analyse af cortisol.

Der er referenceværdier for cortisol på alle prøver opnået på tre forskellige laboratorier med LC-MS/MS-instrumenter og korrigeret med det primære referencemateriale ERM DA192. Et ® i grafikken viser den dermed opnåede referenceværdi for hver enkelt prøve. Gennemsnittet af ”egen metode” er ikke relevant når der er referenceværdier for alle prøver.

I tillæg er der nu også referenceværdi for cortisol på NFKK Reference Serum X.

Ved problemer kan panelet på 9 prøver rekvireres fra DEKS (Program nr. 1666 DK) ud over NFKK Reference Serum X.

Uspecifikke analysemetoder kan ikke korrigeres til at måle korrekt, fordi de er uspecifikke og dermed medbestemmer andre steroidhormoner og ukendte lægemidler. Analysemetoder med mangelfuld dissociation af cortisol fra bindingsproteiner kan ikke bestemme total cortisol.

Baggrund og formål

Cortisol måles i nmol/L. Koncentrationen i plasma er således lav, og andre naturlige steroider samt steroidlignende lægemidler ligner hinanden meget, hvorfor det kan være vanskeligt at udvikle et tilstrækkeligt specifikt assay baseret på et immunkemisk princip.

På den anden side er cortisol et veldefineret stof, og der findes primære, certificerede referencematerialer til cortisol, hvilket er forudsætningen for at have sammenlignelige analyseresultater uden bias på tværs af forskellige instrumenters analysemetoder.

ACTH-test og Dexametason®-test udføres på patienter med henblik på at vurdere binyrebarkens funktion. ACTH-stimulations-test anvendes ved mistanke om binyrebarkinsufficiens, og Dexametason suppressions-test anvendes ved mistanke om overproduktion af cortisol. Derfor er en specifik og korrekt cortisolanalyse af stor betydning i klinikken.

I 2015 udsendte DEKS et spørgeskema til de danske laboratorier vedrørende cortisol, ACTH-test (Synacthen®-test), cut-off og sporbarhed, fordi EQA-programmet til hormoner fra Labquality gennem længere tid havde vist stor diskrepans mellem forskellige instrumenters analyseniveau. Svarene i spørgeskemaet viste at der generelt ikke var sammenhæng mellem analyseniveau og den benyttede cut-off-værdi for ACTH-testen.

På det tidspunkt lå analyseresultater for Abbott og LC-MS/MS i samme niveau, mens alle andre instrumenter havde et højere analyseniveau.

Med henblik på at afhjælpe problemerne blev Dansk Selskab for Klinisk Biokemi (DSKB), DEKS og Dansk Endokrinologisk Selskab (DES) inspireret af svensk forbillede til at gennemføre dette specielle EQA-program. Ved at analysere humane prøver med relevante niveauer af cortisol på forskellige analyseplatforme kan det undersøges om der er overensstemmelse mellem de forskellige formes analyseniveau, herunder specificitet.

Et ensartet analyseniveau af cortisol på tværs af alle landets hospitalslaboratorier er forudsætningen for at kunne indføre ensartede cut-off-værdier ved funktionstest og ensartede beslutningsgrænser for diagnose og/eller behandling af sygdomme, som er baseret på cortisolkoncentrationer.

De svenske søsterselskaber har udgivet en ”Rekommendation” til de klinisk biokemiske afdelinger på baggrund af deres resultater af en undersøgelse svarende til nærværende danske undersøgelse. Ligesom ”Rekommendationen är tillstyrkt av Svenska Endokrinologföreningen inklusive Hypofysgruppen och Addisonregistret samt Svensk Förening för Klinisk Kemi” har DSKB og DES indvilget i at understøtte resultatet af denne danske undersøgelse med en dansk anbefaling. Der er andre analyseinstrumenter i Danmark end i Sverige, og samtidig er der kommet undersøgelser som giver evidens for ensartede cut-off-værdier efter ACTH-test, se reference 1.

Med dette EQA-program undersøges således om det er muligt i Danmark at opnå ensartede analyseniveauer for cortisol.

Materialer

Prøvematerialet blev sendt fra DEKS juli 2018. Prøverne blev sendt på tøris, og cortisol er stabilt jf. reference 2 og 3.

Tabel 1. Prøvemateriale

Prøve	Køn k= kvinder m =mænd	Matrice		Tilstræbt koncentration nmol/L
1	k	plasma	pool	50
2	m	serum	single donation	50
3	k	serum	pool	100
4	m	serum	pool	100
5	k	serum	single donation	350
6	m	serum	single donation	350
7	k	serum	single donation	450
8	m	serum	single donation	450
9	P-piller k	serum	pool af 2	Ukendt
10	børn	serum	blandet køn, under teenage	Ukendt

Kun en prøve, prøve nr. 1, er en pool af plasma. Alle øvrige prøver er serum. Fem af prøverne er donationer fra enkelt-personer. Det indebærer at deres steroidspejl afspejler en potentiel patient. I en pool af flere personer bliver de enkelte steroider og lægemidler ”fortyndet” af de andre personers bidrag.

Kun Siemens skriver i deres pakningsvedlæg at deres analysemetode kun er egnet til serum. Alle andre instrumenter kan både benytte serum- og plasmaprøver.

Metoder

Analyseinstrumenter og metodegrupper

Der er indberettet analyseresultater for følgende instrumenter, som anvendes til rutineanalyser.

Tabel 2. Analyseinstrumenter

Producent	Analyse-instrument	Antal, n
Abbott	Architect	1
*	LC-MS/MS	3
Roche	Cobas 6000	2
Roche	Cobas 8000	10
Siemens	Advia chemistry	4
Siemens	Atellica	1
Siemens	Immulite	1
Beckmann, Ortho-Clin. Diagnostics m.fl.		0

*LC-MS/MS er ikke tilknyttet en producent, men er en generel metode.

I grafikdelen er vist analyseresultater opnået med mindst en deltager i en metode.

Alle analyseresultater er sammenlignet med en referenceværdi, mærket ® i grafikken. Se i øvrigt afsnittet herunder ”Referenceværdier, ”target”.

Da Siemens Advia og Atellica måler ens, omtales de i denne tekstdel af rapporten som en metodegruppe, og det samme gælder alle Roches e-moduler, e-411 og e-602, uanset om de sidder på cobas 6000 eller 8000.

LC-MS/MS benyttes også som rutineinstrumenter. Deres resultater er derfor medtaget og vises ukorrigerede i deres egen metodegruppe, mens ”target” er korrigeret, jf. afsnittet herunder.

I Bilag A, ”Summary report for metodegruppe”, ses resultaterne for hver af de enkelte metoder.

Referenceværdier, ”target”

Tre forskellige laboratorier har analyseret alle prøverne samt NFKK Reference Serum X med LC-MS/MS for cortisol. NFKK Reference Serum X er et nordisk, sekundært referencemateriale, som er serumbaseret, og som opbevares ved – 80 °C hos DEKS.

Med LC-MS/MS-metoder er dissociationen (adskillelsen) af cortisol fra bindingsproteiner fuldstændig, og interferens fra andre steroider er minimeret, da metoderne er meget specifikke fordi de ikke er baseret på antistofbinding.

Endvidere har alle tre laboratorier analyseret de primære referencematerialer ERM DA192 og ERM DA193 med som ukendte prøver. In-house-kalibreringer er derved blevet korrigeret i forhold til deres bestemmelse af ERM DA192. Da et af laboratorierne havde problemer med ERM DA193, er korrektion med denne ikke foretaget. For de to andre laboratorier giver det ingen forskel også at korrigerer med ERM DA193.

Referenceværdierne fremgår af tabel 3 i afsnittet ”Resultater og diskussion”.

Kun referenceværdierne anvendes ved vurdering af de forskellige analysemetoders resultater.

Acceptgrænser

Alle laboratorier med en enkelt undtagelse har analyseret alle prøver i 3-dobbeltbestemmelse. De afbildede resultater kaldet ”eget resultat” er derfor gennemsnittet af tre bestemmelse. Dette er

gjort for at minimere den tilfældige spredning for derved at få et klart billede af eventuelle specificitets-, dissocierings- eller kalibreringsproblemer for alle metoderne.

Den benyttede acceptgrænse i grafikken er 10%, som er den maksimalt tilladelige bias bestemt ud fra biologisk variation jf hjemmesiden <https://www.westgard.com/optimal-biodatabase1htm.htm> ud fra Carmen Ricos et. al. indsamlede data:

$$\text{Bias} < 0,25 * \sqrt{(\text{CV}^2_{\text{indivuel}} + \text{CV}^2_{\text{gruppe}})} \Rightarrow$$

$$\text{Bias} < 10,26\%$$

idet $\text{CV}_{\text{indivuel}} = 15,2\%$ og $\text{CV}_{\text{gruppe}} = 38,1\%$.

Resultater og diskussion

De immunkemiske metoder har to udfordringer vedrørende analyse af cortisol. Alle steroider ligner hinanden og lægemidler med steroid-effekt ligner også cortisol. Derfor er det vanskeligt at udvikle og finde et antistof som er tilstrækkeligt specifikt til kun at binde cortisol. Den anden udfordring er at det meste cortisol og andre steroider er bundet til cortisol-bindende globulin (CBG) og albumin og skal dissocieres for at kunne bestemmes, idet alle metoder analyserer total cortisol. Denne del af analyseprocessen er også løst på forskellig måde producererne imellem. Ved prøven fra kvinder som bruger P-piller, prøve 9, ses at nogle metoder måler for lavt, hvilket sandsynligvis skyldes at metoderne ikke er tilstrækkeligt effektive til at dissociere cortisol fra CBG, idet kvinder som bruger P-piller, har forhøjet CBG.

Tabel 3. Referenceværdier. Korrigeret middel af 3 laboratorier med LC-MS/MS

Prøve	Køn k= kvinder m =mænd	Matrice		Reference- værdi, nmol/L
1	k	plasma	pool	45,8
2	m	serum	single donation	24,8
3	k	serum	pool	108,2
4	m	serum	pool	89,0
5	k	serum	single donation	335
6	m	serum	single donation	388
7	k	serum	single donation	498
8	m	serum	single donation	484
9	P-piller k	serum	pool af 2	394
10	børn	serum	blandet køn, under teenage	192,2

Disse referenceværdier af alle prøver er gældende for ”target”.

I bilag A, ”Summary report for metodegruppe”, ses både referenceværdierne og middelværdierne af metodegrupperne. Da LC-MS/MS-metoderne også benyttes til rutineanalyse, ses de ukorrigerede resultater under deres egen metodegruppe,

Prøver med lav koncentration

Prøver med lav cortisolkoncentration er specielt vigtige hos patienter med binyrebarkinsufficiens samt i forbindelse med Dexamethason suppressions-test.

Ved prøver med lav koncentration viser problemer med specificiteten sig tydeligt i analyse-resultaterne for de forskellige metoder.

Den vanskeligste prøve at analysere for alle de immunkemiske metoder har været prøve nr. 2, som oven i købet er en single donation med serummatrice. Personen/patienten må have et så

komplekst steroid- og lægemiddelspejl at specificiteten i de immunkemiske metoder ikke har kunnet overkomme udfordringen. Kun LC-MS/MS-metoderne kan analysere prøven korrekt. Se bilag A og sammenhold resultaterne for metoderne her med referenceværdien på 24,8 nmol/L.

Prøve nr. 1 er poolet plasma fra kvinder, og prøven har en lav koncentration. Den kan være analyseret både falsk for lav, hvis kvinderne bruger P-piller og derved har forhøjet CBG, og samtidig falsk for høj på grund af manglende specificitet. Herved kan der fremkomme et tilsyneladende rigtigt resultat, men på en forkert baggrund.

Alle øvrige prøver

Tabel 4 herunder samt bilag B, ”Afvigelse fra referenceværdi for instrumentgrupper” med kurvede tendenslinjer, viser hvor meget de enkelte instrumentgrupper afviger fra referenceværdien.

LC-MS/MS har ingen problemer anvendt som rutineinstrument og er derfor ikke medtaget i tabellen men kun i bilag B.

Tabel 4. Analyseinstrumenternes procentuelle afvigelse fra referenceværdien

Prøve	Køn k= kvinder m =mænd	Matrice	Ref.- værdi, nmol/L	Abbott % afvigelse	Roche % afvigelse	Siemens Advia % afvigelse	Siemens Immulite % afvigelse
1	k	pool	45,8	7,2	3	nd *	nd *
2	m	single donation	24,8	519	142	642	444
3	k	pool	108,2	25	14	92	33
4	m	pool	89,0	47	17	167	70
5	k	single donation	335	- 13	-1	2	- 4
6	m	single donation	388	- 2	3	20	19
7	k	single donation	498	- 6	3	17	17
8	m	single donation	484	- 1	2	29	10
9	P-piller k	pool af 2	394	- 21	0	- 25	- 14
10	børn	blandet køn	192,2	- 5	1	7	- 9

*: nd betyder ikke beregnet, da prøven er plasma.

For øvrige prøver klarer analyseinstrumenterne fra Roche sig inden for 10% acceptgrænsen på alle prøver undtagen to, som analyseres marginalt forhøjede, jf. tabel 4.

Analyseinstrumentet fra Abbott måler rigtigt på 5 af prøverne, både lidt for højt og lidt for lavt på de øvrige. Prøven fra kvinder der bruger P-piller, analyseres for lavt hvilket tyder på at dissociationen fra bindingsproteiner ikke er tilstrækkelig. Den udglattede og interpolerede linje i bilag B, ”Afvigelse fra referenceværdi for instrumentgrupper”, viser at der med Abbotts instrument kan analyseres prøver med en faktisk koncentration over 150 nmol/L.

Siemens har tre analyseinstrumenter som kan bestemme cortisol immunkemisk. Siemens Advia Centauer og Atellica måler ens, mens Siemens Immulite ifølge data i dette EQA-program sandsynligvis benytter et antistof, som er mere specifikt.

Alle instrumenter undtagen fra Siemens kan analysere på plasma, hvorfor resultater på prøve 1 ikke vurderes for Siemens.

De udglattede og interpolerede kurver i bilaget viser at Siemens Immulite bestemmer prøver med høje koncentrationer af cortisol ($> \sim 150$ nmol/L) store træk korrekt, men generelt for højt.

Prøve 9 fra kvinder, der bruger P-piller, bestemmes for lavt, hvilket tyder på at dissociationen fra bindingsproteiner ikke er tilstrækkelig.

Siemens Advia Centauer og Atellica måler forkert, både for lavt og alt for højt, på alle prøver undtagen to. Det er således ikke muligt at måle korrekt på de to instrumenter.

Konklusion

Baseret på data i dette EQA-program og ud fra EFLMs analysekvalitetskrav fra Stockholm 1999 (Milano 2016) baseret på biologisk variation, max 10% bias, blev det vurderet at patientprøver kan analyseres i de undersøgte niveauer med LC-MS/MS og med instrumenter fra Roche. Med Abbott og Siemens Immulite kan der analyseres patientprøver som har en forventelig P-cortisol koncentration højere end 150 nmol/L. Det anbefales ikke at analysere på andre af de undersøgte instrumenter for så vidt angår deres analytiske performance i 2018.

Ved alle immunkemiske rutinemetoder kan interferens forekomme. Når det kliniske billede ikke stemmer med den fundne koncentration af P-cortisol, anbefales det derfor at få verificeret analysesvaret med en LC-MS/MS-metode og konferere med den klinisk biokemiske afdeling.

Således viser resultatet af dette EQA-program at der kan skabes ensartede analyseniveauer for cortisol på landets sygehuse og dermed ensartet patientbehandling baseret på cortisol-koncentrationer. Det har mundet ud i en anbefaling fra DSKB, DES og DEKS til de klinisk biokemiske afdelinger. Blandt andet er der indført fælles cut-off efter ACTH-test på 420 nmol/L. Samme cut-off har norske laboratorier også indført.

Hele anbefalingen ses i bilag D ligesom den kan findes på www.deks.dk og på www.des.dk.

Med venlig hilsen

Inger Plum og Morten Pedersen
DEKS

Referencer

Reference 1. <http://www.endocrinology.dk/index.php/nbv hovedmenu/4-hypofyse-og-binyresygdomme/5-primær-og-sekundaer-binyrebarkinsufficiens>

Reference 2. Young DS. Effects of preanalytical variables on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington: AACCC Press, 2007

Reference 3. Stroud LR, et.al., Psychoneuroendocrinology 32(2) (Feb 2007) 140-150.

BILAG A

Nummerisk rapport for metodegrupper

På næste side ses data for metodegrupperne i ”Summary report for metodegruppe” og her kan man sammenligne de forskellige metodegruppers middelværdier med referenceværdierne og indbyrdes.

Tabel. Prøvenavne i Bilag A og i grafikken

Prøve	Køn k= kvinder m =mænd	Prøvenavn i bilag A
1	k	Sample B
2	m	Sample C
3	k	Sample D
4	m	Sample E
5	k	Sample F
6	m	Sample G
7	k	Sample H
8	m	Sample I
9	P-piller k	Sample J
10	børn	Sample A1

Component	Mean	Sd	CV	sem	N	Outliers
P-Cortisol; stofk. Sample 'B'						
<i>Reference Target</i>	45,8					
Alle	50,6	7,21	14,25	1,573	21	1
Abbott Architect i2000SR	49,1				1	0
LC-MS/MS	47,5	2,38	5	1,372	3	0
Roche e602	47	1,441	3,07	0,456	10	0
Roche Modular/ e411	47	2,12	4,51	1,5	2	0
Siemens ADVIA Centaur	66	3,66	5,54	2,11	3	1
Siemens Atellica	59,3				1	0
Siemens Immulite	49,1				1	0
P-Cortisol; stofk. Sample 'AI'						
<i>Reference Target</i>	192,2					
Alle	194,6	12,3	6,32	2,75	20	0
Abbott Architect i2000SR	182,9				1	0
LC-MS/MS	202	12,26	6,06	7,08	3	0
Roche e602	193,2	5,75	2,97	1,818	10	0
Roche Modular/ e411	195,6	15,51	7,93	10,97	2	0
Siemens ADVIA Centaur	205	32,7	15,93	23,1	2	0
Siemens Atellica	194				1	0
Siemens Immulite	174,3				1	0
P-Cortisol; stofk. Sample 'C'						
<i>Reference Target</i>	24,8					
Alle	117,5	108,2	92,1	23,1	22	0
Abbott Architect i2000SR	119,2				1	0
LC-MS/MS	26,5	0,83	3,13	0,479	3	0
Roche e602	60,3	2,27	3,77	0,719	10	0
Roche Modular/ e411	58,7	2,35	4,01	1,665	2	0
Siemens ADVIA Centaur	310	33	10,66	16,49	4	0
Siemens Atellica	292				1	0
Siemens Immulite	135				1	0
P-Cortisol; stofk. Sample 'D'						
<i>Reference Target</i>	108,2					
Alle	142,4	36,8	25,8	7,84	22	0
Abbott Architect i2000SR	134,8				1	0
LC-MS/MS	113,5	6,59	5,81	3,81	3	0
Roche e602	123,5	4,68	3,79	1,481	10	0
Roche Modular/ e411	123,4	9,69	7,85	6,85	2	0
Siemens ADVIA Centaur	208	16,05	7,73	8,02	4	0
Siemens Atellica	200				1	0
Siemens Immulite	144				1	0
P-Cortisol; stofk. Sample 'E'						
<i>Reference Target</i>	89					
Alle	136	57,1	42	12,18	22	0
Abbott Architect i2000SR	131,2				1	0
LC-MS/MS	93	3,5	3,76	2,02	3	0
Roche e602	104,2	4,23	4,06	1,337	10	0
Roche Modular/ e411	105,8	5,87	5,55	4,15	2	0
Siemens ADVIA Centaur	238	21	8,8	10,49	4	0
Siemens Atellica	223				1	0
Siemens Immulite	151,3				1	0
P-Cortisol; stofk. Sample 'F'						
<i>Reference Target</i>	335					
Alle	334	21,3	6,36	4,53	22	0
Abbott Architect i2000SR	292				1	0
LC-MS/MS	352	10,4	2,95	6	3	0
Roche e602	331	15,5	4,68	4,9	10	0
Roche Modular/ e411	345	20,5	5,94	14,48	2	0
Siemens ADVIA Centaur	343	28,4	8,28	14,21	4	0
Siemens Atellica	309				1	0
Siemens Immulite	320				1	0

Component	Mean	Sd	CV	sem	N	Outliers
P-Cortisol; stofk. Sample 'G'						
<i>Reference Target</i>	388					
Alle	415	32,7	7,89	6,98	22	0
Abbott Architect i2000SR	381				1	0
LC-MS/MS	405	17,87	4,42	10,32	3	0
Roche e602	395	9,54	2,42	3,02	10	0
Roche Modular/ e411	411	40,4	9,85	28,6	2	0
Siemens ADVIA Centaur	464	17,68	3,81	8,84	4	0
Siemens Atellica	448				1	0
Siemens Immulite	460				1	0
P-Cortisol; stofk. Sample 'H'						
<i>Reference Target</i>	498					
Alle	529	40,8	7,71	8,7	22	0
Abbott Architect i2000SR	466				1	0
LC-MS/MS	524	28,8	5,5	16,62	3	0
Roche e602	510	14,42	2,83	4,56	10	0
Roche Modular/ e411	522	58,1	11,13	41,1	2	0
Siemens ADVIA Centaur	581	43,5	7,48	21,7	4	0
Siemens Atellica	552				1	0
Siemens Immulite	584				1	0
P-Cortisol; stofk. Sample 'I'						
<i>Reference Target</i>	484					
Alle	525	55,5	10,56	11,83	22	0
Abbott Architect i2000SR	480				1	0
LC-MS/MS	504	20,1	3,99	11,63	3	0
Roche e602	494	11,75	2,38	3,72	10	0
Roche Modular/ e411	501	51,5	10,27	36,4	2	0
Siemens ADVIA Centaur	623	26,3	4,22	13,14	4	0
Siemens Atellica	598				1	0
Siemens Immulite	532				1	0
P-Cortisol; stofk. Sample 'J'						
<i>Reference Target</i>	394					
Alle	366	50,3	13,74	10,73	22	0
Abbott Architect i2000SR	312				1	0
LC-MS/MS	410	15,82	3,86	9,13	3	0
Roche e602	392	11,76	3	3,72	10	0
Roche Modular/ e411	399	33,2	8,32	23,5	2	0
Siemens ADVIA Centaur	295	34,6	11,71	17,29	4	0
Siemens Atellica	275				1	0
Siemens Immulite	339				1	0

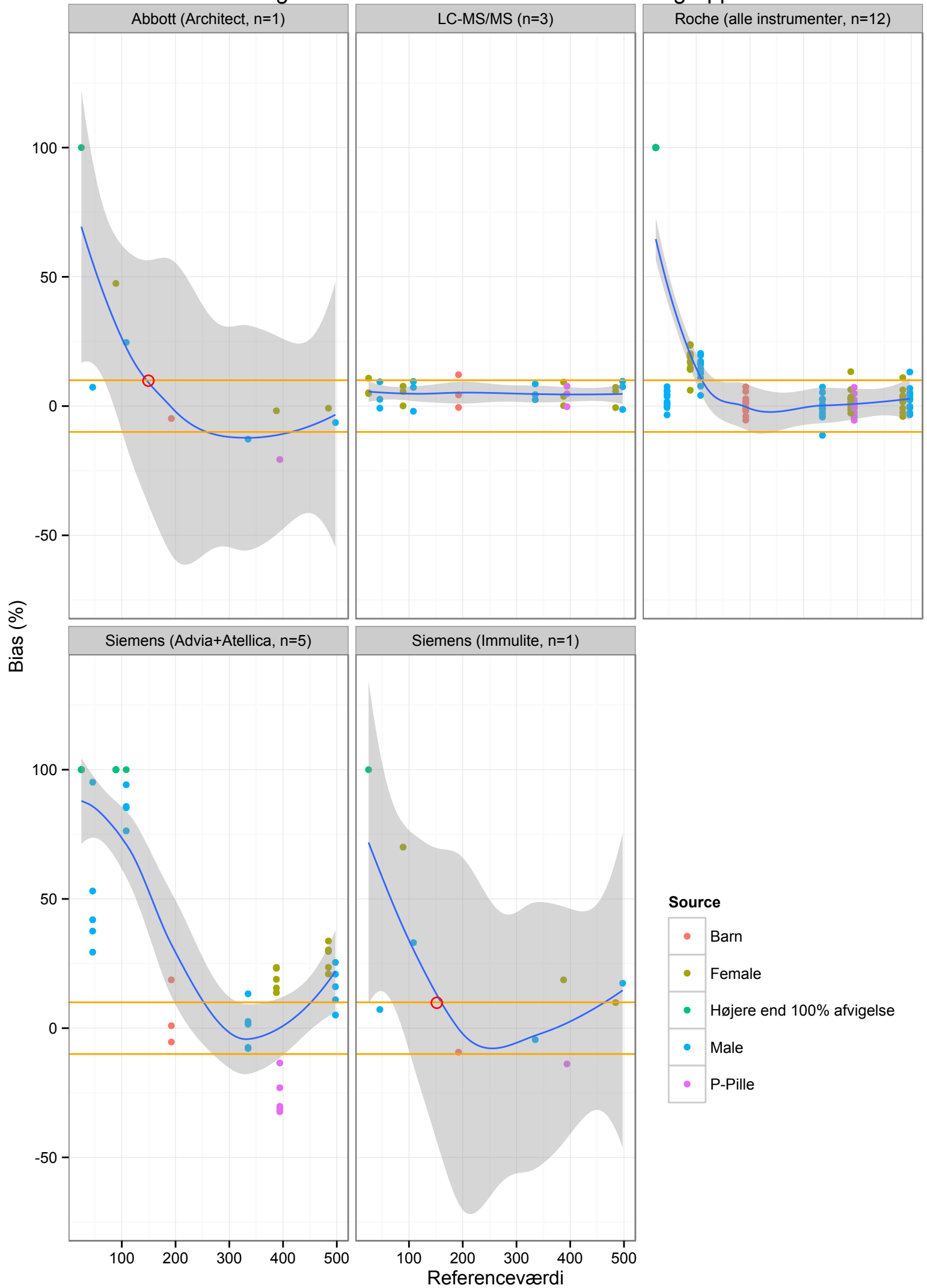
BILAG B

Afvigelse fra referenceværdierne for instrumentgrupper

Herunder ses ”Afvigelse fra referenceværdi for instrumentgrupper”, som er udglattede tendenskurver for analyseinstrumenternes afvigelse i % fra referenceværdien for hver af prøverne. Afvigelser, som er større end 100% er vist ved 100%. Tendenslinjen medtager prøve 9 ved 394 nmol/L, som stammer fra kvinder der bruger P-piller, og som analyseres lavt for alle andre instrumenter end for Roche og LC-MS/MS.

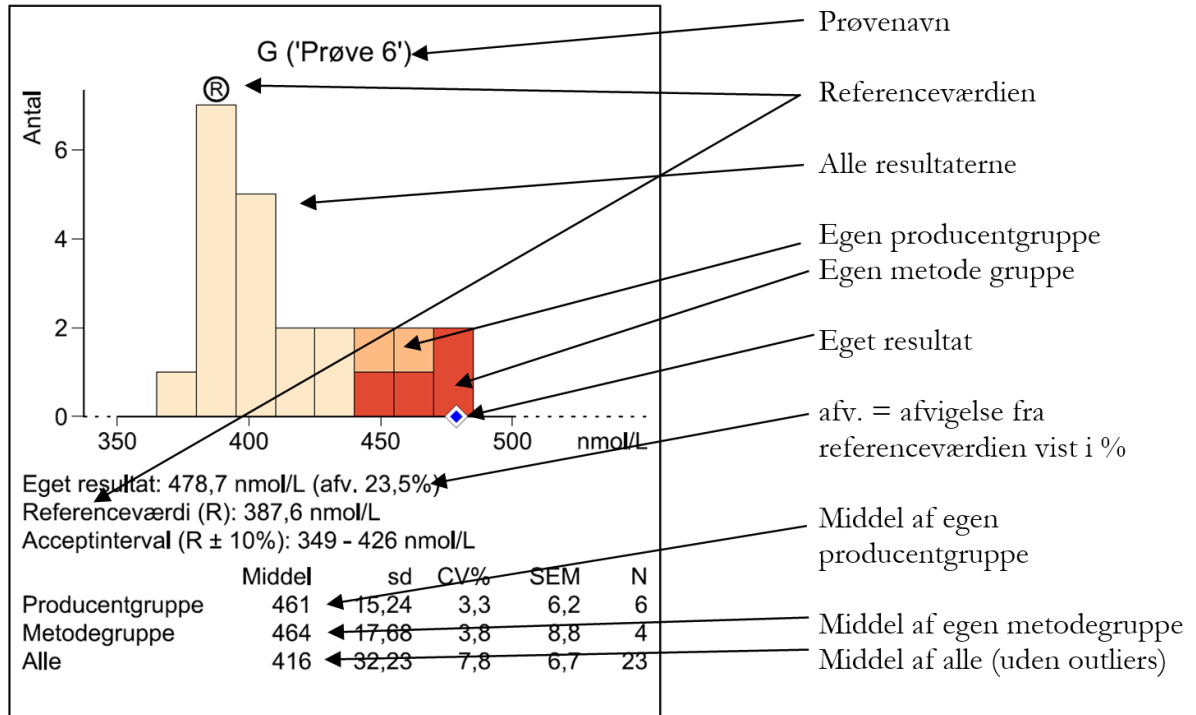
Det grå felt omkring tendenslinjen angiver den usikkerhed tendenslinjen er bestemt med. De to cirkler ved Abbott og Siemens Immulite viser tendenslinjens skæring med 10% acceptgrænsen ved 150 nmol/L.

Afvigelse fra referenceværdi for instrumentgrupper



BILAG C

Vejledning i tolkning af grafik



Vejledning i tolkning af grafik

Targetværdien er en referenceværdi og er markeret med ® i histogrammet.

Den øvre og nedre grænse i acceptintervallet er estimeret som targetværdien ± 10% baseret på basis af biologisk variation for cortisol.

Sd er standard afvigelsen

CV% er variationskoefficienten, der beregnes som $sd/middel \cdot 100\%$

SEM er standardfejlen på middelværdien, sd/\sqrt{N}

N er antallet af instrumenter, for hvilke der er afleveret et resultat

BILAG D

Gengivelse af ”Anbefaling”

Cortisolprojekt 2018, DSKB, DES og DEKS. ANBEFALING Rutineanalyse af cortisol i serum og plasma

Anbefalingen er tiltrådt af Dansk Endokrinologisk Selskab, DES, og Dansk Selskab for Klinisk Biokemi, DSKB samt DEKS. Projektet, som dannede baggrund for anbefalingen, blev planlagt og gennemført af DEKS i form af et specielt eksternt kvalitetssikringsprogram, EQA-program, der havde deltagelse af alle danske laboratorier som i 2018 rutinemæssigt udførte cortisolanalyser.

Spørgsmål vedrørende anbefalingen stiles til DSKB, DES eller DEKS.

Baggrund

Medio 2018 undersøgte DEKS analyseniveauerne for P-cortisol i EQA-prøver ved de omtrentlige koncentrationer 50, 100, 350 og 450 nmol/L hos mænd og kvinder samt hos kvinder, som benyttede P-piller, og børn under teenagealderen. Rapport over resultaterne kan rekvireres hos DEKS. Analyseniveauerne blev bedømt ud fra en referenceværdi fremkommet ved bestemmelse på 3 laboratorier med LC-MS/MS over for det primære certificerede referencemateriale ERM DA192.

Ud fra EFLMs analysekvalitetskrav fra Stockholm 1999 (Milano 2016) blev det vurderet at LC-MS/MS og Roche kan analysere patientprøver i de undersøgte niveauer.

Anbefaling

1. P-Cortisol (NPU01787) taget på et vilkårligt tidspunkt rapporteres i overensstemmelse med de lokale aftaler mellem den endokrinologiske afdeling og klinisk biokemi.
P-Cortisol kan rapporteres sammen med et morgenreferenceinterval og sammen med referenceintervaller for forskellige tidspunkter på døgnet.
2. Hvis laboratoriedatasystemerne tillader det, kan P-Cortisol ved test rapporteres således at typen af funktionstest og tidspunkt fremgår, men uden øvrige analysekommentarer, se bilaget på næste side.
3. I laboratoriets prøvetagningsanvisninger bør angives tolkningshjælp: En ustresset morgenprøve med P-Cortisol > 350 nmol/L tyder oftest ikke på binyrebarkinsufficiens.
4. Efter ACTH-test (Synacthen®-test) ses almindeligvis en 30 min. P-Cortisol >420 nmol/L. Værdier under 420 nmol/L kan være forenelig med binyrebarkinsufficiens.
5. Efter ”over night” hæmning med 1,0 mg dexamethason ses almindeligvis en hæmning af P-Cortisol < 50 nmol/L. Manglende suppression kan være forenelig med Cushings syndrom.
6. Ved problemer og ved afvigende analyseresultater fx i eksterne kvalitetsprogrammer kan analyseniveauet undersøges fx med cortisolpanelet på 9 prøver med referenceværdier fra DEKS eller med NFKK Reference Serum X.
7. Ved alle immunkemiske rutinemetoder kan interferens forekomme. Når det kliniske billede ikke stemmer med den fundne P-cortisol-koncentration, anbefales det at få verificeret analysesvaret med en LC-MS/MS-metode og konferere med den klinisk biokemiske afdeling.

Lise Bathum & Martin Overgaard, DSKB, Troels Krarup Hansen, DES, og Inger Plum, DEKS.

Bilag til ”Anbefaling”

NPU-numre til præcisering af en test for cortisol hvor prøvematerialet er serum eller plasma.

En cortisolprøve taget på et vilkårligt tidspunkt hedder:

NPU01787	P—Cortisol; stofk. = ? nmol/L
----------	-------------------------------

ACTH-test:

NPU04139	P—Cortisol; stofk.(0 min) = ? nmol/L
NPU04140	P—Cortisol; stofk.(30 min) = ? nmol/L

Dexamethasontest:

NPU04139	P—Cortisol; stofk.(0 min) = ? nmol/L
NPU10589	P—Cortisol; stofk.(540 min) = ? nmol/L

Andre:

NPU10301	P—Cortisol(frit); stofk. = ? nmol/L
NPU10533	P—Cortisol; stofk.(1 d) = ? nmol/L
NPU10409	P—Cortisol; stofk.(1 min) = ? nmol/L
NPU10593	P—Cortisol; stofk.(1,5 d) = ? nmol/L
NPU10628	P—Cortisol; stofk.(10 min) = ? nmol/L
NPU04971	P—Cortisol; stofk.(120 min) = ? nmol/L
NPU10645	P—Cortisol; stofk.(135 min) = ? nmol/L
NPU10627	P—Cortisol; stofk.(15 min) = ? nmol/L
NPU04966	P—Cortisol; stofk.(15 min) = ? nmol/L
NPU10224	P—Cortisol; stofk.(150 min) = ? nmol/L
NPU10222	P—Cortisol; stofk.(180 min) = ? nmol/L
NPU10588	P—Cortisol; stofk.(2 d) = ? nmol/L
NPU10630	P—Cortisol; stofk.(20 min) = ? nmol/L
NPU10408	P—Cortisol; stofk.(240 min) = ? nmol/L
NPU56110	P—Cortisol; stofk.(25 min) = ? nmol/L
NPU10587	P—Cortisol; stofk.(3 d) = ? nmol/L
NPU56111	P—Cortisol; stofk.(30 min) = ? nmol/L
NPU22090	P—Cortisol; stofk.(360 min) = ? nmol/L
NPU21626	P—Cortisol; stofk.(4 d) = ? nmol/L
NPU10631	P—Cortisol; stofk.(40 min) = ? nmol/L
NPU22091	P—Cortisol; stofk.(420 min) = ? nmol/L
NPU04967	P—Cortisol; stofk.(45 min) = ? nmol/L
NPU04972	P—Cortisol; stofk.(480 min) = ? nmol/L
NPU10410	P—Cortisol; stofk.(5 min) = ? nmol/L
NPU10590	P—Cortisol; stofk.(570 min) = ? nmol/L
NPU04968	P—Cortisol; stofk.(60 min) = ? nmol/L
NPU04969	P—Cortisol; stofk.(75 min) = ? nmol/L
NPU04970	P—Cortisol; stofk.(90 min) = ? nmol/L
NPU08711	P—Cortisol; stofk.(maks.; proc.) = ? nmol/L
NPU08733	P—Cortisol; stofk.(min.; proc.) = ? nmol/L
NPU21625	P—Cortisol; stofk.(T08) = ? nmol/L
NPU10673	P—Cortisol; stofk.øan.(maks. k. minus 0 min k.; proc.) = ? nmol/L

P-Cortisol; stofk. - Metodegruppe: Roche e602		Instrument: Roche, Cobas 8000, e602 Producentgruppe: Roche																																																								
<p>B ('Prøve 1')</p> <p>Eget resultat: 48,43 nmol/L (afv. 5,7%) Referenceværdi (R): 45,8 nmol/L Acceptinterval (R ± 10%): 41,2 - 50,4 nmol/L</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Middel</th> <th>sd</th> <th>CV%</th> <th>SEM</th> <th>N</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Producentgruppe</td> <td>47,0</td> <td>1,45</td> <td>3,1</td> <td>0,4</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Metodegruppe</td> <td>47,0</td> <td>1,44</td> <td>3,1</td> <td>0,5</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>Alle</td> <td>50,6</td> <td>7,21</td> <td>14,3</td> <td>1,6</td> <td>21</td> </tr> </tbody> </table>			Middel	sd	CV%	SEM	N	Producentgruppe	47,0	1,45	3,1	0,4	12	Metodegruppe	47,0	1,44	3,1	0,5	10	Alle	50,6	7,21	14,3	1,6	21	<p>C ('Prøve 2')</p> <p>Eget resultat: 61,7 nmol/L (afv. 148,8%) Referenceværdi (R): 24,8 nmol/L Acceptinterval (R ± 10%): 22,3 - 27,3 nmol/L</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Middel</th> <th>sd</th> <th>CV%</th> <th>SEM</th> <th>N</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Producentgruppe</td> <td>60,1</td> <td>2,26</td> <td>3,8</td> <td>0,7</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Metodegruppe</td> <td>60,3</td> <td>2,27</td> <td>3,8</td> <td>0,7</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>Alle</td> <td>117,5</td> <td>108,19</td> <td>92,1</td> <td>23,1</td> <td>22</td> </tr> </tbody> </table>			Middel	sd	CV%	SEM	N	Producentgruppe	60,1	2,26	3,8	0,7	12	Metodegruppe	60,3	2,27	3,8	0,7	10	Alle	117,5	108,19	92,1	23,1	22							
	Middel	sd	CV%	SEM	N																																																					
Producentgruppe	47,0	1,45	3,1	0,4	12																																																					
Metodegruppe	47,0	1,44	3,1	0,5	10																																																					
Alle	50,6	7,21	14,3	1,6	21																																																					
	Middel	sd	CV%	SEM	N																																																					
Producentgruppe	60,1	2,26	3,8	0,7	12																																																					
Metodegruppe	60,3	2,27	3,8	0,7	10																																																					
Alle	117,5	108,19	92,1	23,1	22																																																					
<p>D ('Prøve 3')</p> <p>Eget resultat: 125,7 nmol/L (afv. 16,2%) Referenceværdi (R): 108,2 nmol/L Acceptinterval (R ± 10%): 97,4 - 119,0 nmol/L</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Middel</th> <th>sd</th> <th>CV%</th> <th>SEM</th> <th>N</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Producentgruppe</td> <td>123,5</td> <td>5,15</td> <td>4,2</td> <td>1,5</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Metodegruppe</td> <td>123,5</td> <td>4,68</td> <td>3,8</td> <td>1,5</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>Alle</td> <td>142,4</td> <td>36,77</td> <td>25,8</td> <td>7,8</td> <td>22</td> </tr> </tbody> </table>			Middel	sd	CV%	SEM	N	Producentgruppe	123,5	5,15	4,2	1,5	12	Metodegruppe	123,5	4,68	3,8	1,5	10	Alle	142,4	36,77	25,8	7,8	22	<p>E ('Prøve 4')</p> <p>Eget resultat: 107 nmol/L (afv. 20,3%) Referenceværdi (R): 89 nmol/L Acceptinterval (R ± 10%): 80,1 - 97,9 nmol/L</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Middel</th> <th>sd</th> <th>CV%</th> <th>SEM</th> <th>N</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Producentgruppe</td> <td>104,5</td> <td>4,26</td> <td>4,1</td> <td>1,2</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Metodegruppe</td> <td>104,2</td> <td>4,23</td> <td>4,1</td> <td>1,3</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>Alle</td> <td>136,0</td> <td>57,15</td> <td>42,0</td> <td>12,2</td> <td>22</td> </tr> </tbody> </table>			Middel	sd	CV%	SEM	N	Producentgruppe	104,5	4,26	4,1	1,2	12	Metodegruppe	104,2	4,23	4,1	1,3	10	Alle	136,0	57,15	42,0	12,2	22							
	Middel	sd	CV%	SEM	N																																																					
Producentgruppe	123,5	5,15	4,2	1,5	12																																																					
Metodegruppe	123,5	4,68	3,8	1,5	10																																																					
Alle	142,4	36,77	25,8	7,8	22																																																					
	Middel	sd	CV%	SEM	N																																																					
Producentgruppe	104,5	4,26	4,1	1,2	12																																																					
Metodegruppe	104,2	4,23	4,1	1,3	10																																																					
Alle	136,0	57,15	42,0	12,2	22																																																					
<p>F ('Prøve 5')</p> <p>Eget resultat: 344,1 nmol/L (afv. 2,7%) Referenceværdi (R): 334,9 nmol/L Acceptinterval (R ± 10%): 301 - 368 nmol/L</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Middel</th> <th>sd</th> <th>CV%</th> <th>SEM</th> <th>N</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Producentgruppe</td> <td>333</td> <td>16,27</td> <td>4,9</td> <td>4,7</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Metodegruppe</td> <td>331</td> <td>15,50</td> <td>4,7</td> <td>4,9</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>Alle</td> <td>334</td> <td>21,26</td> <td>6,4</td> <td>4,5</td> <td>22</td> </tr> </tbody> </table>			Middel	sd	CV%	SEM	N	Producentgruppe	333	16,27	4,9	4,7	12	Metodegruppe	331	15,50	4,7	4,9	10	Alle	334	21,26	6,4	4,5	22	<p>G ('Prøve 6')</p> <p>Eget resultat: 398,7 nmol/L (afv. 2,9%) Referenceværdi (R): 387,6 nmol/L Acceptinterval (R ± 10%): 349 - 426 nmol/L</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Middel</th> <th>sd</th> <th>CV%</th> <th>SEM</th> <th>N</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Producentgruppe</td> <td>398</td> <td>16,13</td> <td>4,1</td> <td>4,7</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Metodegruppe</td> <td>395</td> <td>9,54</td> <td>2,4</td> <td>3,0</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>Alle</td> <td>415</td> <td>32,73</td> <td>7,9</td> <td>7,0</td> <td>22</td> </tr> </tbody> </table>			Middel	sd	CV%	SEM	N	Producentgruppe	398	16,13	4,1	4,7	12	Metodegruppe	395	9,54	2,4	3,0	10	Alle	415	32,73	7,9	7,0	22							
	Middel	sd	CV%	SEM	N																																																					
Producentgruppe	333	16,27	4,9	4,7	12																																																					
Metodegruppe	331	15,50	4,7	4,9	10																																																					
Alle	334	21,26	6,4	4,5	22																																																					
	Middel	sd	CV%	SEM	N																																																					
Producentgruppe	398	16,13	4,1	4,7	12																																																					
Metodegruppe	395	9,54	2,4	3,0	10																																																					
Alle	415	32,73	7,9	7,0	22																																																					
<p>H ('Prøve 7')</p> <p>Eget resultat: 519 nmol/L (afv. 4,3%) Referenceværdi (R): 497,5 nmol/L Acceptinterval (R ± 10%): 448 - 547 nmol/L</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Middel</th> <th>sd</th> <th>CV%</th> <th>SEM</th> <th>N</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Producentgruppe</td> <td>510</td> <td>22,34</td> <td>4,4</td> <td>6,4</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Metodegruppe</td> <td>510</td> <td>14,42</td> <td>2,8</td> <td>4,6</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>Alle</td> <td>529</td> <td>40,79</td> <td>7,7</td> <td>8,7</td> <td>22</td> </tr> </tbody> </table>			Middel	sd	CV%	SEM	N	Producentgruppe	510	22,34	4,4	6,4	12	Metodegruppe	510	14,42	2,8	4,6	10	Alle	529	40,79	7,7	8,7	22	<p>I ('Prøve 8')</p> <p>Eget resultat: 499,8 nmol/L (afv. 3,2%) Referenceværdi (R): 484,4 nmol/L Acceptinterval (R ± 10%): 436 - 533 nmol/L</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Middel</th> <th>sd</th> <th>CV%</th> <th>SEM</th> <th>N</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Producentgruppe</td> <td>495</td> <td>19,01</td> <td>3,8</td> <td>5,5</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Metodegruppe</td> <td>494</td> <td>11,75</td> <td>2,4</td> <td>3,7</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>Alle</td> <td>525</td> <td>55,51</td> <td>10,6</td> <td>11,8</td> <td>22</td> </tr> </tbody> </table>			Middel	sd	CV%	SEM	N	Producentgruppe	495	19,01	3,8	5,5	12	Metodegruppe	494	11,75	2,4	3,7	10	Alle	525	55,51	10,6	11,8	22							
	Middel	sd	CV%	SEM	N																																																					
Producentgruppe	510	22,34	4,4	6,4	12																																																					
Metodegruppe	510	14,42	2,8	4,6	10																																																					
Alle	529	40,79	7,7	8,7	22																																																					
	Middel	sd	CV%	SEM	N																																																					
Producentgruppe	495	19,01	3,8	5,5	12																																																					
Metodegruppe	494	11,75	2,4	3,7	10																																																					
Alle	525	55,51	10,6	11,8	22																																																					
<p>J ('Prøve 9')</p> <p>Eget resultat: 403,5 nmol/L (afv. 2,4%) Referenceværdi (R): 393,9 nmol/L Acceptinterval (R ± 10%): 355 - 433 nmol/L</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Middel</th> <th>sd</th> <th>CV%</th> <th>SEM</th> <th>N</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Producentgruppe</td> <td>393</td> <td>14,84</td> <td>3,8</td> <td>4,3</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Metodegruppe</td> <td>392</td> <td>11,76</td> <td>3,0</td> <td>3,7</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>Alle</td> <td>366</td> <td>50,33</td> <td>13,7</td> <td>10,7</td> <td>22</td> </tr> </tbody> </table>			Middel	sd	CV%	SEM	N	Producentgruppe	393	14,84	3,8	4,3	12	Metodegruppe	392	11,76	3,0	3,7	10	Alle	366	50,33	13,7	10,7	22	<p>AI ('Prøve 10')</p> <p>Eget resultat: 197,6 nmol/L (afv. 2,8%) Referenceværdi (R): 192,2 nmol/L Acceptinterval (R ± 10%): 173,0 - 211,4 nmol/L</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Middel</th> <th>sd</th> <th>CV%</th> <th>SEM</th> <th>N</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Producentgruppe</td> <td>193,6</td> <td>7,05</td> <td>3,6</td> <td>2,0</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Metodegruppe</td> <td>193,2</td> <td>5,75</td> <td>3,0</td> <td>1,8</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>Alle</td> <td>194,6</td> <td>12,30</td> <td>6,3</td> <td>2,7</td> <td>20</td> </tr> </tbody> </table>			Middel	sd	CV%	SEM	N	Producentgruppe	193,6	7,05	3,6	2,0	12	Metodegruppe	193,2	5,75	3,0	1,8	10	Alle	194,6	12,30	6,3	2,7	20							
	Middel	sd	CV%	SEM	N																																																					
Producentgruppe	393	14,84	3,8	4,3	12																																																					
Metodegruppe	392	11,76	3,0	3,7	10																																																					
Alle	366	50,33	13,7	10,7	22																																																					
	Middel	sd	CV%	SEM	N																																																					
Producentgruppe	193,6	7,05	3,6	2,0	12																																																					
Metodegruppe	193,2	5,75	3,0	1,8	10																																																					
Alle	194,6	12,30	6,3	2,7	20																																																					
<p>Differensplot</p>		<p>Historik for B</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Uds.</th> <th>Materiale</th> <th>Target</th> <th>Eget</th> <th>%dif</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>18/01</td> <td>B</td> <td>45,8</td> <td>48,43</td> <td>5,7</td> </tr> <tr> <td>18/01</td> <td>AI</td> <td>192,2</td> <td>197,6</td> <td>2,8</td> </tr> <tr> <td>18/01</td> <td>C</td> <td>24,8</td> <td>61,7</td> <td>148,8</td> </tr> <tr> <td>18/01</td> <td>D</td> <td>108,2</td> <td>125,7</td> <td>16,2</td> </tr> <tr> <td>18/01</td> <td>E</td> <td>89,0</td> <td>107</td> <td>20,3</td> </tr> <tr> <td>18/01</td> <td>F</td> <td>334,9</td> <td>344,1</td> <td>2,7</td> </tr> <tr> <td>18/01</td> <td>G</td> <td>387,6</td> <td>398,7</td> <td>2,9</td> </tr> <tr> <td>18/01</td> <td>H</td> <td>497,5</td> <td>519</td> <td>4,3</td> </tr> <tr> <td>18/01</td> <td>I</td> <td>484,4</td> <td>499,8</td> <td>3,2</td> </tr> <tr> <td>18/01</td> <td>J</td> <td>393,9</td> <td>403,5</td> <td>2,4</td> </tr> </tbody> </table>		Uds.	Materiale	Target	Eget	%dif	18/01	B	45,8	48,43	5,7	18/01	AI	192,2	197,6	2,8	18/01	C	24,8	61,7	148,8	18/01	D	108,2	125,7	16,2	18/01	E	89,0	107	20,3	18/01	F	334,9	344,1	2,7	18/01	G	387,6	398,7	2,9	18/01	H	497,5	519	4,3	18/01	I	484,4	499,8	3,2	18/01	J	393,9	403,5	2,4
Uds.	Materiale	Target	Eget	%dif																																																						
18/01	B	45,8	48,43	5,7																																																						
18/01	AI	192,2	197,6	2,8																																																						
18/01	C	24,8	61,7	148,8																																																						
18/01	D	108,2	125,7	16,2																																																						
18/01	E	89,0	107	20,3																																																						
18/01	F	334,9	344,1	2,7																																																						
18/01	G	387,6	398,7	2,9																																																						
18/01	H	497,5	519	4,3																																																						
18/01	I	484,4	499,8	3,2																																																						
18/01	J	393,9	403,5	2,4																																																						