



Examensarbete, 15 hp
Kandidatexamen i Biomedicinsk laboratorievetenskap
Höstterminen 2017

Validering av turbidimetrisk metod för koncentrationsbestämning av albumin i cerebrospinalvätska

Kristina Ziethén

Sektionen för lärande och miljö

Populärvetenskaplig sammanfattning

På laboratoriet för klinisk kemi på Södra Älvsborg sjukhus (SÄS) i Borås genomfördes en studie där två metoder jämfördes, en för att analysera albumin och en för totalprotein i cerebrospinalvätska (CSF). Denna färglösa vattenliknande vätska cirkulerar i ryggraden och hjärnan. Den förser centrala nervsystemet (CNS) med näringsämnen samtidigt som den transporterar bort restprodukter. Förutom transporten av ämnen har CSF en annan viktig funktion som skydd och stötdämpare åt hjärnan och ryggraden vid exempelvis fall. CSF innehåller ungefär 300 olika proteiner, ungefär 80 % av dem kommer från blodet. En vuxen människa har mellan 85–150 ml CSF i kroppen och vid provtagning tas vanligtvis max 20 ml. Provet tas i nedre delen av ländryggen och transporteras så snabbt som möjligt till laboratoriet för analys, bland annat analyseras olika typer av celler i provet och koncentrationen av protein. Vid nervsjukdomar så som MS och Parkinson är det vanligt att barriären mellan blodet och hjärnan försämras, vilket leder till en ökad tillförsel av ämnen som inte borde finnas eller som borde ha lägre koncentration. Barriären kallas för blod-hjärn-barriären och förkortas BBB. Det är vanligt att proteinet albumin används för att undersöka BBB:s funktion eftersom albumin tillverkas i levern och går via BBB in i CSF. Koncentrationen av albumin i CSF är vanligtvis mellan 100–300 mg/l hos en vuxen individ.

Vid analysen av albumin använder man en tubidimetrisk metod. Då tillsätts albumin-specifika antikroppar som bildar ett komplex med albuminet som finns i provet. När ljus sedan skickas genom provet kommer komplexet att sprida ljuset och det ljuset som går igenom till detektorn kallas transmetans. Transmetansen är proportionell mot koncentrationen albumin i provet. Vid mätning av totalprotein i CSF används spektrofotometri. Till provet tillsätts två olika färgämnen, som tillsammans bildar ett blå-lila färgkomplex med protein. Därefter skickas ljus genom provet och man mäter ljuset som absorberas av provet.

Vid jämförelsen av de båda metoderna visade det sig att båda har ett genomsnittligt fel på 2 % mellan två körningar av samma prov. Även om mätosäkerheten var densamma så var spridningen av felet lägre för albumin-metoden jämfört med totalprotein-metoden. Tiden det tog innan provsvar var ca 40 min för båda metoderna. Kostnadsskillnaden mellan metoderna var ca 30 kr för varje prov som ska analyseras, spinal-albumin är den dyrare metoden.

Resultatet visade att albuminanalysen kommer att kunna ersätta totalprotein-metoden som rutinanalys av CSF på laboratoriet

Författare

Kristina Ziethén

Svensk titel

Validering av turbidimetrisk metod för koncentrationsbestämning av albumin i cerebrospinalvätska

Engelsk titel

Validation of turbidimetric method of measuring the concentration of albumin in cerebrospinal fluid

Handledare

Handledare: Bodil Hernroth, professor, Högskolan Kristianstad

Laborationshandledare: Erika Karlsson, legitimerad biomedicinsk analytiker, sektionsledare för rutinkemi, laboratoriet för klinisk kemi Södra Älvsborgs sjukhus

Examinator

Ann-Sofi Rehnstam-Holm, professor, Högskolan Kristianstad

Sammanfattning

I denna studie jämfördes två olika metoder för att analysera cerebrospinalvätska (CSF); spinal-protein och spinal-albumin. Syftet med studien var att undersöka om spinal-albumin som baseras på turbidimetri skulle kunna ersätta spinal-protein som baseras på spektrofotometri. Denna används idag som rutinanalys på laboratoriet för klinisk kemi på Södra Älvsborgs sjukhus (SÄS). 35 prover analyserades, tagna från det CSF -prover som ankom till SÄS. Varje prov kördes två gånger med respektive metod. Studien visade en god korrelation mellan metoderna, dock visade Bland-Altman diagram mindre spridning av värdena som erhöles med albumin-metoden. Resultaten för albumin jämfördes mot Sahlgrenska universitetssjukhus (SU) resultat, då albumin-metoden ingår i deras rutiner.

Studien visade också att de dagliga kontrollerna som kördes ej var lämpade för albumin metoden, då både innehåll och koncentration inte var anpassad till spinalprover. Kontrollerna kommer att bytas ut mot andra mer lämpade kontroller. Metoden för spinal-albumin kommer att kunna ersätta total-protein som rutinanalys av CFS.

Ämnesord

Albumin, cerebrospinalvätska, CSF, turbidimetri, spektrofotometri, kontroll blod-hjärn barriär, spinal-albumin, spinal-protein

Title: Validation of turbidimetric method of measuring the concentration of albumin in cerebrospinal fluid**Abstract**

In this study two different methods for measuring of cerebrospinal fluid (CSF), spinal-albumin and spinal-total protein were compared. The purpose of the study was to evaluate the possibility to replacing the spectrophotometric method of total protein with a turbidimetric method of albumin as a routine analysis of the laboratory for clinical chemistry at Södra Älvsborgs hospital (SÄS). 35 samples were included in the study taken from the CSF samples that arrives at SÄS. All samples were tested twice with each method. The result of the study showed a good correlation between the two methods. Spinal-albumin had a better limit of agreement according to the Bland-Altman test compared to spinal-protein. During the study it was discovered that the daily controls were not suitable for analyse of spinal-albumin, neither in contains nor in concentration. The controls will be replaced with more suitable ones. The method for albumin will be instated as the new routine analysis for CFS.

Keywords:

Albumin, cerebrospinal fluid, CSF, turbidimetry, spectrophotometry, spinal-albumin, spinal-protein

Innehåll

1. Inledning	6
1.1. Albumin	6
1.1.1. Funktion.....	6
1.1.2. Struktur	7
1.1.3. Metabolism	8
1.1.4. Klinisk betydelse	8
1.2. Ryggradens anatomi	9
1.3. Blod-hjärna-Barriären.....	10
1.3.1. Uppbyggnad	10
1.3.2. Funktion.....	10
1.3.3. Dysfunktion	10
1.4. Spinalvätska.....	11
1.4.1. Metabolism och funktion.....	11
1.4.2. Innehåll	11
1.4.3. Provtagning och provhantering	12
1.5. Analysprinciper	13
1.5.1. Turbidimetri.....	13
1.5.2. Spektrofotometri.....	13
1.6. Syfte och Frågeställningar	14
1.6.1. Syfte.....	14
1.6.2. Frågeställningar	14
2. Metod.....	14
2.1. Laborativmetod.....	14
2.1.1. Provhantering	14
2.1.2. CSF-Albumin	14

2.1.3. CSF total-protein	15
2.1.4. Etiskaspekt.....	15
2.2. Statistisk metod.....	15
3. Resultat	16
3.1. Svarstid	16
3.2. Skillnad mellan provsvaren	16
3.3. Korrelation mellan metoderna	17
3.4. Bland-Altman analys	17
3.5. Precisionkörning	18
3.6. Prisjämförelse	18
4. Diskussion.....	18
4.1. Metoddiskussion.....	18
4.1.1. Spinal-Albumin	19
4.1.2. Spinal-protein	20
4.2. Resultatdiskussion	20
5. Slutsatser.....	20
Tackord.....	21

1. Inledning

1.1. Albumin

1.1.1. Funktion

Albumin motsvarar 55–60 % av den totala halten protein i blodet (Nicholson et al., 2000) och är klassat som ett transportprotein. Dessutom är en av de huvudsakliga uppgifterna att kontrollera kolloidosmotiska trycket (COP) (Nilsson-Ehle et al., 2013).

Albumin står för ungefär 80 % av COP hos en frisk individ. Anledningen till att albumin har en stor påverkan på COP beror på dess molekylvikt och höga koncentration. Albuminkoncentrationen kontrollerar vätskefördelningen i vävnader (Nicholson et al., 2000), exempelvis mellan plasma och det intercellulära rummet (Nilsson-Ehle et al., 2013).

Den flexibla strukturen av albumin tillåter molekylerna att binda till ett flertal olika substrat men gör så med olika hög affinitet. Albumin kan omge ett substrat som den binder in så att det inte är i kontakt med omgivningen. De molekyler som binds med högst affinitet är medelstora hydrofoba anjoner, inkluderat fettsyror med långa kedjor, bilirubin och hematin (Nicholson et al., 2000).

Albuminmolekylen transporterar också flera endogena substrat som t.ex. gallsyra, koppar, zink, fosfat (Nicholson et al., 2000) och kalcium. Koppar och zink transporteras mellan olika organsystem. Albumin transporterar en stor mängd kalcium, den binder ungefär 1/3 av allt kalcium i plasman. Vid analyser där den totala halten kalcium beräknas är det viktigt att sätta denna i förhållande till albuminkoncentrationen så att allt kalcium faktiskt beräknas (Nilsson-Ehle et al., 2013).

Vid transport av läkemedel är dess pH värde avgörande för inbindningen. Majoriteten av det basiska läkemedlen binder in till albumin. Däremot binder de sura till andra proteiner som exempelvis glykoproteiner. Det finns alltid undantag som bekräftar regler och vissa läkemedel kan binda till både albumin och andra proteiner (Nicholson et al., 2000). Exempel på läkemedel som binder till albumin är sulfonamider, salicylater och några typer av penicillin (Nilsson-Ehle et al., 2013).

Läkemedel som binder till albumin har delats upp i två huvudgrupper efter vilken av två huvudinbindningspositioner läkemedlet binder till på albuminmolekylen. Positionerna har fått benämningarna I och II. Till position I binder bland annat penicillinet och färgningsmedel som använd för infärgning av molekylerna för detektion. Till position II binder exempelvis fettsyror och klorid (Nicholson et al., 2000).

Eftersom albumin och andra proteiner binder läkemedel i blodet så innebär det att halten fria läkemedel kommer vara lågt. Om läkemedelskoncentrationen enbart mäts i serum kan svaret bli missvisande. Att bland annat albumin binder läkemedel antas vara en av orsakerna bakom att personer behöver individuell dosinställning vilket i övrigt också kan beror på ålder, temperatur och pH hos individen (Nicholson et al., 2000). Läkemedel som binder till samma position på albuminmolekylen konkurrerar om platsen. Det är därför viktigt att veta vilket läkemedel som binder till vilken position, speciellt vid en behandling där flera läkemedel kombineras. Ett exempel på läkemedel som konkurrerar med varandra är fenylobutazon som konkurrerar bort warfarin och tolbutamid från albuminmolekylen. Warfarin och tolbutamid som konkurreras bort kommer få ett högre uttryck och

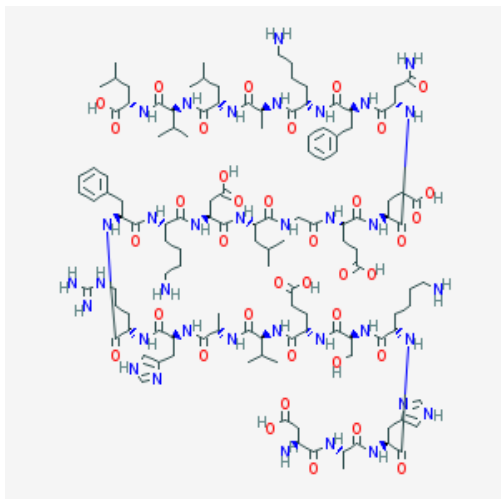
fenylbutazon som binder till albuminet ett lägre uttryck, vilket kan leda till en obalans vid behandlingen av patienten (Nilsson-Ehle et al., 2013).

Utöver albuminmolekylens två huvuduppgifter nämnda ovan (upprätthålla COP och transport av substrat) är den delaktig i andra funktioner i kroppen såsom inaktiveringen av olika föreningar. Exempel på sådana är disulfiram och penem antibiotika. Molekylen är även delaktig i metabolismen av endogena substrat, såsom t.ex. lipider. Albumin har dessutom en antioxidant potential eftersom det är delaktig i bortforslingen av syrefria radikaler. Dessa har betydelse för patogenesen vid inflammationssjukdomar. Det finns indikationer på att albumin kan förebygga läckage från kapillärer vid stress. Albumin kan också ha en koagulationshinderande effekt som liknar den av heparin. Det antas bero på att albuminmolekylen och heparinmolekylen har en liknade strukturell uppbyggnad (Nicholson et al., 2000).

Albumin är en del av plasmaproteinbuffertsystemet. Tillsammans med immunoglobulin och hormonbindningsprotein står de för en buffertkapacitet på ca 20 % av vad hemoglobinet klarar (Nilsson-Ehle et al., 2013).

1.1.2. Struktur

Det är 585 aminosyror som bygger upp albuminmolekylen med en atommassa på 66,4 Da. Polypeptidkedjan som albuminmolekylen består av har 3D-strukturen av sammanlänkade α -helixar som är ihopkopplade med 17 disulfid-bryggor. Molekylen karakteriseras av en avsaknad av kolhydratdel (Nicholson et al., 2000) och polysackaridkedjor som är vanliga bland plasmaproteiner (Nilsson-Ehle et al., 2013). Genom användning av x-ray kristallografi har albumins 3D struktur bestämts och delats in i tre domäner (figur 1) (Nicholson et al., 2000). Albumin har en halveringstid på ca 20 dygn. Den långa halveringstiden beror på att albuminmolekylen är negativt laddad det gör att basalmembranet repellerar molekylen (Nilsson-Ehle et al., 2013).



Figur1 visar albuminmolekylens struktur och beståndsdelar (Pubchem, 2018).

Att albuminmolekylen kan binda en rad olika substrat, antas bero på albuminets strukturella förmåga att anpassa sig efter den substans som ska binda in (Nilsson-Ehle et al., 2013). Molekylen anpassar sig även efter miljön runt omkring molekylen. Med den strukturella egenskapen får albumin en låg viskositet. Trots albuminmolekylens flexibilitet så är den mycket stabil. Om disulfid-bryggorna bryts kan de återskapas igen

och albuminet kan återgå till sin ursprungliga struktur. Denna egenskap gör att albumin kan vara svårt att denaturera vilket gör serum- och CSF- proverna relativt hållbara och stabila. För att denaturera protein krävs en kraftig ändring i temperatur eller pH, även en kraftig förändring i den kemiska miljön kan denaturera albuminmolekylen. Det finns ungefär 100 olika kända typer av albumin. Trots den stora variationen av molekylen finns det enbart en dokumenterad variant som ändrar funktionen av albuminmolekylen (Nicholson et al., 2000).

1.1.3. Metabolism

Den totala mängden albumin i kroppen är ca 320 g varav ca 140 g cirkulerar och ca 180 g befinner sig i det intercellulära rummet. Vid förändringar av mängden albumin i kroppen kan det ta upp till två dygn innan ekvivalens uppnåtts igen (Nilsson-Ehle et al., 2013). Blodet håller ca 42 % av den totala albuminkoncentrationen, resterande volym finns i extravaskulära utrymmen (Nicholson et al., 2000). Koncentrationen i plasman är ca 40–51 g/l och i lymfan 10–30 g/l (Nilsson-Ehle et al., 2013).

Kroppen kan ta upp albumin via kapillärendotelet från intag av olika födoämnen men kan också syntetisera eget albumin. Syntesen sker i levern, där ungefär 10–15% av hepatocytern används för syntesen (Nilsson-Ehle et al., 2013). Det färdigställda albuminet skickas ut i cirkulationssystemet. Levern lagrar inget albumin, utan är det brist så måste nytt albumin syntetiseras (Nicholson et al., 2000).

Den viktigaste faktorn som påverkar produktionen av albumin är COP som omger hepatocyterna. Om COP sjunker kommer syntetiseringshastigheten av albumin öka. Att COP kontrollerar produktionen av albumin kan ge negativa konsekvenser vid behandlingar. Om en patient ges albumin intravenöst kommer det att motverka kroppens egen albumintillverkning, vilket gör att problemet med albuminkoncentrationen kommer att kvarstå (Nilsson-Ehle et al., 2013).

Varje dag försvinner proteiner och andra ämnen från kroppen. Ungefär 5 % av alla proteiner som försvinner från kroppen är albumin, vilket motsvarar ca 14 g. Albumin bryts ned till amniosyror i de flesta av kroppens organ. (Nicholson et al., 2000).

Produktionen, nedbrytningen och fördelningen av albumin kan förskjutas mellan inter- och extra-cellulära rummen vid vissa sjukdomar. Vid början av en sjukdom kan koncentrationen albumin i blodet sjunka kraftig och den återgår inte till de normala förrän patient har börjat återhämta sig från sjukdomen. Exempel på tillstånd då dysfunktion av fördelningen kan uppkomma är sepsis eller större kirurgiska ingrepp. Anledningen till fördelningsförändringen är ökad kapillär genomtränglighet. Denna kan öka markant med upp till 300 % hos patienter i septisk chock och med 100 % vid hjärtoperation (Nicholson et al., 2000).

1.1.4. Klinisk betydelse

Trots oräkneliga studier som visar albuminets funktion hos friska individer är dess exakta roll vid svår sjukdom inte fastställd men man har sett att en låg albuminkoncentration i blodet hos en kritiskt sjuk patient är associerad med en dålig prognos (Nicholson et al., 2000).

Ett högt albuminvärde ligger på ≥ 50 g/l hos vuxna. Den enda kända orsaken till högt albumin är dehydrering, eftersom nivån av plasmavatten minskar och plasman då blir mer koncentrerad (Lund-Egtoff & Löwbeer, 2014).

Ett lågt albuminvärde, hypoalbuminemi, ligger på ≤ 35 g/l hos en vuxen person (Lund-Egtoff & Löwbeer, 2014). Det finns olika nivåer på lågt albumin där lätt försänkt är ≤ 35 g/l och kraftigt försänkt är ≤ 25 g/l. Hypoalbuminemi, kan orsakas av en mängd olika medicinska tillstånd (Nilsson-Ehle et al., 2013) som kan delas in i olika kategorier. Proteinförlust som innebär att kroppen förlorar albumin men att det är väl fördelat och produktionen är normal. Tillstånd som kan orsaka detta är, njursjukdomar, diarré eller inflammation i tarmslemhinna. I andra fall kan albuminet vara förskjutet till den extravaskulära polen. Det kan orsakas av ascites, brännskada, vävnadsskada och inflammation. Tredje gruppen är en dysfunktion i produktionen av albumin. Det kan orsakas av avancerad leverskada, malabsorption och utbredda maligna processer. Den fjärde gruppen är hemodilution, som är en utspädning av blodet. Kan orsakas av graviditet och hjärtsvikt (Lund-Egtoff & Löwbeer, 2014).

Förutom det ovan nämnda orsakerna till hypoalbuminemi kan det även orsakas av undernäring och det går att se lättare sänkningar efter en akut hepatit. Patienter som har en lätt försänkt (≤ 35 g/l) hypoalbuminemi är oftast undernärda, har hydremi, eller lider av reumatoid artrit. Kraftigt sänkt albuminkoncentration (≤ 25 g/l) hos patienter tyder ofta på njurskador eller kraftigare brännskador (Nilsson-Ehle et al., 2013).

Hypoalbuminemi med kraftigt försänkt värde, ≤ 20 g/l, kan orsaka ödem. Vissa föds med hypoalbuminemi, dock är det ovanligt i Sverige. Frekvensen ligger på ungefär 1:10–20 miljoner i Sverige. Att födas med hypoalbuminemi innebär att levern inte kan producera albumin på egen hand utan allt albumin kroppen måste tillföras utifrån (Nilsson-Ehle et al., 2013).

Under åren 1970–2000 genomfördes flera studier där extra tillförsel av albumin testades i behandlingar mot lågt blodtryck, brännskador och hypoalbuminemi. Studien visade inga fördelar med att ge patienterna albumin. Den visade istället att tillförsel av albumin kan ha lett till sex fler dödsfall per 100:e patient (Nicholson et al., 2000).

Vanligtvis analyseras albuminkoncentrationen när läkaren är osäker på orsaken till sjukdom eller när läkaren vill följa ett sjukdomsförlopp. Exempel på sjukdomsförlopp som brukar följas med hjälp av albuminkoncentrationen är vid rubbningar i proteinsyntesen, abnormala förluster av albumin och vid ödem av oklar anledning (Nilsson-Ehle et al., 2013). Det är vanligt att ta CSF prover för att diagnostisera sjukdomar i CNS.

1.2. Rygggradens anatomi

Den mänskliga ryggraden består av 24 kotor. Kotorna delas in i tre grupper baserat på deras position. Grupperna är cisterna, ventricles och lumbar. Det finns sju cisterna-kotor, 12 ventricles-kotor och fem lumbar-kotor. Ryggkotorna har ett hålrum som sträcker sig genom alla ryggkotor. I hålrummet finns ryggmärgen, nervtrådar och blodkärl. Ryggraden fungerar främst som ett skal för att skydda dessa (Cramer & Darby, 2014).

Tre membran omger ryggraden och hjärnan; membranens samlingsnamn är *meninges*. Det yttersta membranet är *Dura mater* och är lokaliserat vid skelettet. *Dura mater* är det starkast membranet av de tre. Det mittersta membranet är *Arachnoid* (alternativt *Arachnoidea*). *Arachnoid* har fått sitt namn efter dess utseende, har en struktur som påminner om ett spindelnät. Det innersta membranet *Pia mater* är lokaliserat på den neurala-vävnaden. *Arachnoidea mater* och *Pia mater* finns det ett utrymme som kallas *subarachnoid*-utrymme. Cerebrospinalvätska (CSF) cirkulerar runt i det *subarachnoid*-utrymme (Brunzel, 2004).

1.3. Blod-hjärna-Barriären

1.3.1. Uppbyggnad

Det finns två barriärer som skyddar det centrala nervsystemet (CNS) mot förändringar i blodet och som gör CNS till ett slutet system. Den första barriären är Blod-Hjärn-Barriären (BBB) och den andra är Blod- CSF-Barriären (BCSFB). Att det funnits barriärer mellan blodet och hjärna har varit känt i över 100 år. Vad som inte varit känt är barriärens exakta struktur, funktion eller lokalisering (Engelhardt & Sorokin, 2009).

Blodkärlen i hjärnan är uppbyggda av framförallt två typer av celler. Dels endotelceller (ECs) som utgör kärlets väggar och dels muralceller som sitter på endotelcellernas yta. Egenskaperna som gör BBB så unikt sitter främst i ECs men underhålls och uttrycks genom ett samarbete mellan mur-celler, immunceller, gliaceller och nervceller (Daneman & Prat, 2015).

Eftersom CNS är ett slutet system så måste det finnas kontrollerade transportvägar in i systemet genom BBB för att förse CNS med det som krävs för att den ska fungera. Transportsystemen delas in i två huvudgrupper efflux transporter och highly specific nutrient transporters. Efflux transporter transporterar i huvudsak lipofila molekyler. Highly specific nutrient transporters transporterar specifika näringsämnen och ansvarar för bortforsel av toxiskt restmaterial. Eftersom transportsystemen alltid ska vara aktiva krävs det mycket energitillförsel i CNS ECs. Därför har CNS ECs en betydligt högre andel mitokondrier än övriga kroppens endotelceller (Daneman & Prat, 2015).

Innanför BBB i CNS finns hos en frisk människa ett mycket litet immunuttryck. I huvudsak finns det bara två typer av immunceller i CNS, perivaskulära makrofager och mikroglialceller (Daneman & Prat, 2015).

Anledningen till att CNS kan vara ett slutet system beror på tight junctions (TJs) som binder samman ECs. TJs kombinerat med en avsaknad av fenestrae och en låg aktivitet av pinocytos utgör den fysiska barriären av BBB (Engelhardt & Sorokin, 2009). BBB är inte en fysisk egenskap som utgör barriärens funktion utan ett flertal olika fysiska egenskaper som tillsammans skapar BBB (Daneman & Prat, 2015).

1.3.2. Funktion

BBB utgör en barriär mot vattenlösliga partiklar, joner och celler att ta sig in i CNS (Engelhardt & Sorokin, 2009). Anledningen till att CNS har en stabil homeostas är BBBs hårda och kontinuerliga kontroll över vad som släpps in och ut från CNS. Detta kan dock orsaka transporthinder vid eventuell medicinering och om man istället tillför medicinerna direkt in i CNS så kommer de att ha svårighet att lämna systemet (Daneman & Prat, 2015).

BCSFB har samma funktion som BBB med skillnaden att den istället skyddar CSF (Daneman & Prat, 2015). Ett oräkneligt antal transportsystem tillåter direkttransport av joner och näringsämnen direkt in i CSF samtidigt som en utforsling av toxiska rester sker (Engelhardt & Sorokin, 2009).

1.3.3. Dysfunktion

Det finns många nervsjukdomar som kan orsaka en dysfunktion i BBB. Vid sådan dysfunktion är det antingen hela eller delar av funktionen som förloras. Exempel på sjukdomar där en dysfunktion av BBB sker är stroke, MS, hjärntumörer, neurodegenerativa störningar, Alzheimer's sjukdom (AD), epilepsi och traumatiska

hjärnskador (Daneman & Prat, 2015; Engelhardt & Sorokin, 2009). Det största problemet om BBB inte fungerar är risken för att immunceller kommer in i CNS. Det kan leda till dysfunktion och nedbrytning av nervcellerna. Trots alla sjukdomar som kan orsaka dysfunktion i BBB är det få som aktivt förstör BBB, men ett sådant exempel är MS. En dysfunktion i BBB har inte bara observerats vid olika nervsjukdomar utan även i systemiska sjukdomar såsom vid leversvikt (Daneman & Prat, 2015).

1.4. Spinalvätska

1.4.1. Metabolism och funktion

Choroid plexus producerar 70 % av den totala mängden CSF (Brunzel, 2004). Choroid plexus är lokaliserat i hjärnan och är system av grenade celler i ventriklarna. Endogena arteriell natriuretisk peptider (ANP) är ett substrat som kan binda till receptorer på choroid plexus yta. ANP kan ge signaler som kontrollerar produktionen av CSF. Intrakraniellt tryck (ICP) är proportionellt mot koncentrationen av ANP i CSF. När ICP stiger kommer ANP att ge feedback till choroid plexus. Choroid plexus minskar då transporten av natrium, vilket leder till att vätskenivåerna minskar och att ICP sjunker.

Produktionen av CSF ökar under natten, eftersom CSF cirkulerar i CNS fungerar den som sköljningsmedel. Den sköljer då bort metaboliskt avfall från hjärnan och resterande delar av CNS. Det finns sjukdomar som kan påverka produktionen och omsättningen av CSF i kroppen. Exempel på sjukdomar är normalt-tryck hydrocephalus (NPH) och AD (Winn 2017). CSF produceras, cirkulerar i CNS och reabsorberas till blodet i ett kretslopp. Det utbytet som sker motsvarar ungefär 20 ml varje timma. Det posturala cirkulationstrycket kombinerat med andningen kontrollerar cirkulationen av CSF i hjärnstammen och ryggmärgen genom tryckförändringar. CSF cirkulerar i det subarachnoid utrymme. Arachnoid granulations är små gångar genom membranet lokaliserat i hjärnan som tillåter CSF att passera och gå ut i blodet (Brunzel, 2004).

En vuxen person har normalt 85–150 ml CSF i kroppen (Brunzel, 2004). CSF-tryck och ICP är i princip samma sak och det normala trycket är 5–10 mm Hg (Winn 2017). Ett ICP-tryck som är högre än normalt kan orsaka skador på hjärnan och ryggmärgen om det inte behandlas. Om ICP förblir obehandlat kan det slutligen leda till att patienten avlider (Brunzel, 2004).

CSF fungerar som ett fysiskt skydd i form av en stötdämpare för hjärnan och ryggraden (Winn 2017).

1.4.2. Innehåll

Att BBB har full funktion går att se om man jämför koncentrationen av olika ämnen i blodet och med koncentrationen i CSF. CSF består bland annat av magnesium, klorid, natrium, kalcium, kalium, protein och glukos. Eftersom komponenterna som ingår i CSF är hårt kontrollerade går det att använda avvikelser från det normala komponenterna som indikatorer och diagnostisk hjälp vid olika sjukdomstillstånd. Koncentrationen av proteiner, glukos och laktat undersöks vid majoriteten av alla CSF prov (Brunzel, 2004).

1.4.3.1 Spinal-Protein

CSF innehåller ungefär 300 olika proteiner, 80 % av proteinerna härstammar från plasman. Koncentrationen av proteiner i CSF är vanligen mindre än 1 % av

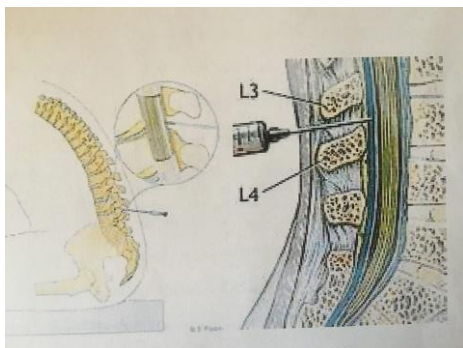
koncentrationer i blodet. En ökning av proteiner i CSF associeras med en sjukdom i CNS (Karcher1 & McPherson, 2017). Koncentrationen av totalt-protein i CSF varierar med ålder och referensvärdet är 150–450 mg/l, personer över 40-års ålder har normalt en högre proteinkoncentration. Total-protein i CSF analyseras oftast för att få en bild av BBB-ogenomtränglighet. Den kan också analyseras för bedömning av patologiska sjukdomstillstånd i CNS (Brunzel, 2004).

1.4.3.2 Spinal-Albumin

Att analysera koncentrationen av albumin i CSF är vanligt när undersökningar av BBB ogenomtränglighet sker. Det beror på att albumin enbart syntetiseras i levern och inte i CNS. Det gör albumin till ett utmärkt referensprotein för att undersöka BBB. En vuxen människa har vanligen en albuminkoncentration på mellan 100–300 mg/l i CSF (Brunzel, 2004).

1.4.3. Provtagning och provhantering

När CSF-prov tas från en patient medför det en risk för komplikationer och ett obehag för patienten. Det gör att CSF prov enbart tas vid diagnostiskt syfte eller när ett sjukdomsförlopp följs, CSF är alltså inget rutinprov. Läkaren utför punktionen mellan 3.e och 4.e lumbar-kotorna (figur 2). Om en patient har en lokal infektion kan punktionsplatsen flyttas längre ner för att undvika införseln av infektionen och immunceller i CNS. Innan punktionen sker lokalbedövning i området där punktionen ska ske. Efter att punktionen är utförd och kanylen är placerad på patientens rygg mäts trycket både före och efter tappning av CSF. Om ICP är utanför normal tryck-intervallet tas 1–2 ml CSF. Om ICP är normalt kan upp till 20 ml (motsvara 15 % av total mängden) CSF tas (Brunzel, 2004).



Figur 2. Beskrivning av var i ryggraden ett CSF prov tas (Fridh, 2017).

Ett prov innehållande CSF ska nå laboratoriet så snart som möjligt. Det beror på att två timmar efter att provet tagits kommer 40 % av alla leukocyter att ha lyserats om det står i rumstemperatur. Ett flertal olika analyser kan utföras på ett CSF prov. CSF undersöks i ett mikroskop för cellräkning och undersökning av vilka celler som finns i CSF. Det utförs en koncentrationsbestämning av glukos, laktat och protein. Koncentrationerna av de ovan nämnda substanserna och typer samt antal av celler har en stor klinisk betydelse vid diagnostik och prognos av sjukdomar (Brunzel, 2004).

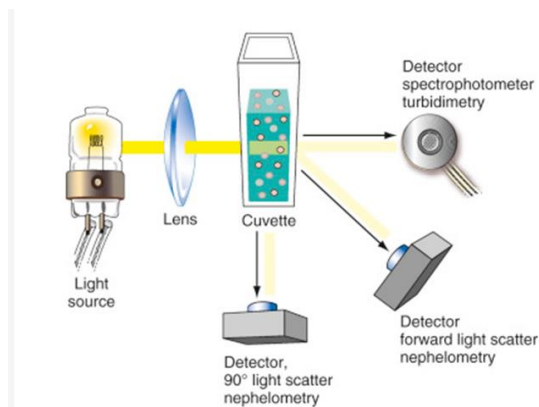
CSF är normalt en färglösvätska med en viskositet som vattnets. Om ett CSF prov är grumligt kan det bero på flera olika saker. CSF kan ha ett högt antal leukocyter eller erythrocyter, hög andel protein eller närvaro av mikroorganismer. Om en provtagning blir dålig, det vill säga att nålen sätts fel eller punkterar ett blodkärl kan det medföra att provet blir grumligt, eftersom det då kontaminerar CSF. Prov som tas efter en tidigare dålig

provtagning kommer att påverkas. Tecken på misslyckad provtagning kan finnas kvar i upp till åtta veckor (Brunzel, 2004).

1.5. Analysprinciper

1.5.1. Turbidimetri

Vid turbidimetri mäts transmetansen av ljus som passerar genom en kyvett med prov (figur 3) (Pincus et al., 2017). Detektorn som mäter transmetansen sitter i en 180° vinkel från provkolonnen. Hur mycket ljuset sprids när det passerar igenom provet beror på grumligheten av provet (Kricka & Park, 2018). Hur mycket av ljuset som absorberas beror på koncentrationen av partiklar och partikelstorlek i lösningen. Turbidimetri kan användas till både kvantitativa och kvalitativa analyser. Metoden har gjorts känsligare genom användning av detektorer med en hög känslighet för ljusförändringar. För turbidimetri används främst synlig ljus (Pincus et al., 2017). Det är en effektiv metod för att analysera immunokomplex *in vitro* (Kricka & Park, 2017). Majoriteten av alla moderna spektrofotometrar kan användas för att utföra turbidimeträmning. Det beror på att analysprinciperna är lika, exempelvis så mäts både turbidimetri och spektrofotometri av detektorer som står i en 180° vinkel till provkolonnen (Kricka & Park, 2018).



Figur 3 visar en principskiss för turbidimetri (Pincus, 2017).

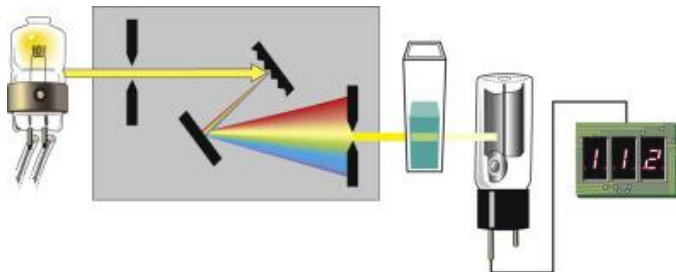
Turbidimetri används inom flera olika kliniska discipliner. Inom mikrobiologi används den för att analysera förekomsten och tillväxten av bakterier i ett prov och även för antibiotikaresistensbestämning. Inom klinisk kemi kan turbidimetri användas för analys av koagulationsprovet, eftersom metoden kan hitta små koagelbildningar i provet. Turbidimetri används också för koncentrationsbestämning av olika substanser. Exempelvis används den för analyser av proteiner i urin eller CSF (Pincus et al., 2017). Analys av CSF kräver normalt en lägre detektionsgräns, eftersom den innehåller lägre koncentrationer (Kricka & Park 2018).

1.5.2. Spektrofotometri

Spektrofotometri har funnits sedan 1600-talet men har utvecklats stegvis under åren fram till nu. En av de större ändringarna i metoden gjordes av forskarna Lambert och Beer. Deras lag Beer-Lambert lag beskriver förhållandet mellan absorption, koncentration, kuvettlängd och molekylens absorptionskoefficient (Pincus et al., 2017).

En spektrofotometer består vanligen av sex delar (figur 4). En stabil strålkälla är första delen, här skickas ljuset ut och vidare till ett filter som filtrerar bort det oönskade våglängderna. Därefter går ljuset av de kvarvarande våglängderna in i provet som sitter i

provhålaren. Ljuset som inte sprids eller absorberas går vidare till detektorn. Signalerna som detektorn sänder går igenom en signalprocessor som omvandlar signalerna till mjukvaran i en dator. En spektrofotometrisk metod kan användas både för kvantitativa och kvalitativa analyser (Pincus et al., 2017).



Figur 4. Principskiss av spektrofotometri (Pincus et al., 2017).

1.6. Syfte och Frågeställningar

1.6.1. Syfte

Syftet med studien var att etablera en metod på instrumentet AU5800 för kvantifiering av albumin i spinalvätska. Om studien ger positiva resultat kommer den nuvarande spektrofotometriska metoden för detektion av spinal-protein att fasas ut och ersättas av den turbidimetriska metoden för spinal-albumin.

1.6.2. Frågeställningar

- Hur förhåller sig metoden för kvantifiering av albumin i spinalvätska i tid, effektivitet, arbetsmiljö, resultatsäkerhet och kostnad i förhållande till de gamla rutinerna?
- Har Södra Älvsborgs sjukhus och Sahlgrenska Universitetssjukhuset samma/liknande värden för provet då samma metod används?
- Går metoden för kvantifiering av albumin i spinalvätska att etablera som en standardanalys i rutinarbetet på labbet?

2. Metod

2.1. Laborativmetod

2.1.1. Provhantering

I studien ingick 35 CSF-prover tagna från de prover som ankom till laboratoriet för klinisk kemi, Södra Älvsborgs sjukhus (SÄS). Vid provinsamling togs ingen hänsyn till ålder, kön, etnisk bakgrund eller sjukdomstillstånd.

Proverna analyserades inom 24 h. Proverna beräknas vara stabila i 72 h efter provtagningen.

2.1.2. CSF-Albumin

Innan analyserna utfördes kalibrerades AU5800 (Beckman Coulter, USA). Kalibreringen gjordes med kalibratorerna Beckman Coulter Urine CSF albumin (REF B38858). Avjonat vatten användes som blankprov. Kalibreringen anses hållbar i 60 dagar. Vid

påfyllning av reagensen Beckman Coulter Urine CSF albumin med nytt LOT-nummer gjordes en omkalibrering.

Kontroller av AU5800 gjordes dagligen med hjälp av MAS UrichemTrak Controls (Thermo scientific, USA). Det användes två nivåer av kontrollen (1 och 2) och vid större avvikelser utfördes extra kalibreringar.

500 µl av CSF-provet överfördes till ett polypropen rör som matades in i AU 5800. Provet analyserades två gånger, om provsvaren avvek mer än 200 mg/l analyserades provet en tredje gång. Provet analyserades med turbidimetri efter att ha tillsatt anti-humana serumalbumin-antikroppar. Antikroppar bildar immunokomplex med albuminet i provet. Mängden ljus som spreds av komplexet är proportionerligt mot koncentrationer av albumin. Proverna analyserades med våglängden 380 nm (Beckman Coulter, 2015).

Efter att analys utförts på Södra Älvsborgs sjukhus (SÄS) skickades provet till Sahlgrenska universitetssjukhus (SU) för analys. SU användes som referenslaboratorier för kontroll av erhållna värden, dock är inte analysen CSF-albumin ackrediterad på SU.

2.1.3. CSF total-protein

Före analys kalibrerades och kontrollerades AU 5800 på samma sätt som beskrivits ovan i metodbeskrivning för CSF-Albumin. Kalibreringen var hållbar tills reagens Beckman Coulter urinary/CSF (Irland) med nytt LOT-nummer ska användas.

500 µl av CSF-provet överfördes till ett polypropen rör som matades in i AU 5800. Provet analyserades två gånger. Metoden som används är spektrofotometri genom att tillsätta ett komplex bestående av pyrogallolröd och molybdat. Komplexet har en rödaktigfärg med en maximal absorbans på 470 nm. När komplexet binder in till det basiska aminosyrorna i proteinet ändras färgen till blå-lila. Det nya komplexet har en maximal absorbans på 600 nm (Beckman Coulter, 2017).

2.1.4. Etiskaspekt

Inget etiskt-tillstånd krävdes för studien eftersom CSF proverna var oidentifierade och ej gick att spåra till patienten.

2.2. Statistisk metod

Ett parat t-test gjordes för jämförelse körning 1 och 2 av proven för båda metoderna och för jämförelse av spinal-albumin kört på SÄS och SU. Hypoteserna som ställdes var, H₀-ingen skillnad, H₁-finns en skillnad och ett p <0.05 betraktades som signifikant. Standardavvikelsen, relativt fel och medelskillnaden räknades även ut. Ett stapeldiagram gjordes för att visa förhållandet mellan sjukhusens provsvar.

För tidsjämförelsen beräknades medel, standardavvikelse, median, max och min-tid.

En korrelationsanalys gjordes mellan metoderna för spinal-albumin och spinal-protein där korrelationskoefficienten beräknades och ett stapeldiagram gjordes för att visa om systematiska fel förelåg.

Bland-Altman diagram gjordes för spinal-albumin och spinal-protein för att visa på en överensstämmelsegräns på 95%.

Tre precisionskörningar utfördes, en kort och två mellanserier. För den korta serien togs ett slumpvis valt CSF prov och kördes 10 gånger i följd. För mellanserien använde de dagliga kontrollerna som bestod av två nivåer, nivå 1 ca 15 mg/l och nivå 2 ca 89 mg/l.

På värdena beräknades medel, standardavvikelse, max och min-värden och CV% (Coefficient of variation).

Vid prisjämförelsen beräknades skillnaden mellan priserna för spinal-protein och spinal-albumin. För den totala analyskostnaden för spinal-albumin används priset som SU har eftersom SÄS ännu inte har något beräknat för den analysen och för att analyspriserna ska vara samma i regionen.

3. Resultat

I studien uteslöts 4 prover på grund av att en eller flera delar av provsvat saknades (n=31).

3.1. Svarstid

Vid jämförelse av svarstiderna (tabell 1) mellan spinal-albumin och spinal-protein var den genomsnittliga svarstiden 40 min. Eftersom provet antas vara stabilt i 72 h och tidsskillnaden var ca 10 sekunder mellan metoderna kan skillnaden i svarstid inte anses ha någon påverkan på analyssvaret.

Det gjordes även en jämförelse mellan sjukhusen Södra Älvsborgs sjukhus (SÄS) och Sahlgrenska Universitetssjukhus (SU) för metoden spinal-albumins svarstid. Svarstiden för SU var betydligt mycket längre med den kortaste svarstiden på 11,5 h. I den svarstiden är transporttid inräknad och proverna skickades som rutinprov och inte som akuta, de akuta proverna brukar ge snabbare analysvar.

Tabell 1. Sammanställning av den statistiska bearbetningen för respektive metods svarstid (n=31).

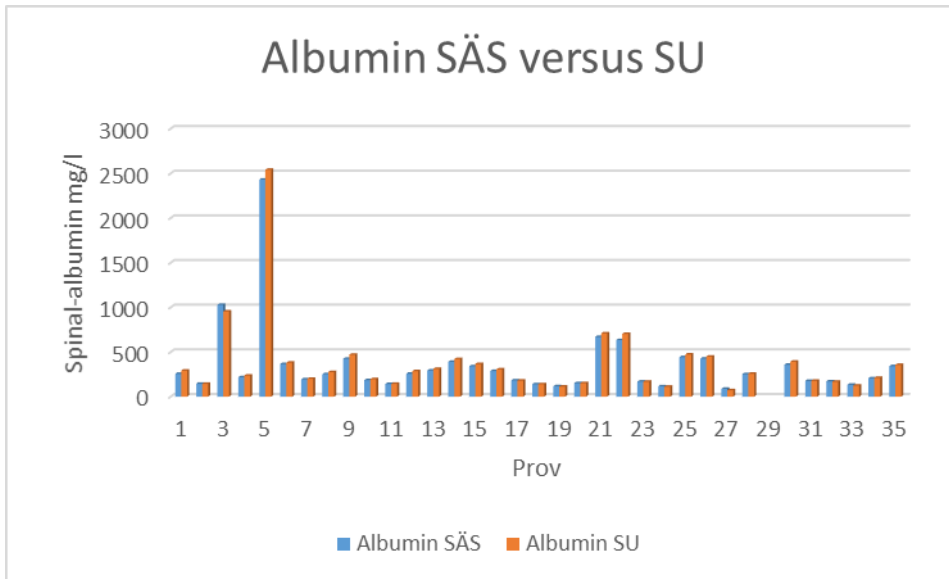
TID	Albumin SÄS (tim)	Protein SÄS (tim)	Albumin SU (tim)
Medel	0,6	0,6	42,5
STDAV	0,3	0,3	27,7
Max	1,5	1,4	121,1
Min	0,4	0,2	11,5
Median	0,5	0,5	27,8

3.2. Skillnad mellan provsvaren

Jämförelsen av skillnaden mellan körning ett och två av samma prov för metoden spinal-albumin gav ett p-värden på 0,505, vilket gör att H0 (ingen skillnad finns) inte går att förkasta och man kan anta att maskinen ger liknande svar för samma prov vid upprepning. Samma gäller för spinal-protein (p= 0,19). När det gjordes en jämförelse av spinal-albumin mellan SÄS och SU gav det ett p-värde på 0,036 och H0 kan förkastas (tabell 2). Stapeldiagrammet visar att SU har ett högre provsvar i majoriteten av fallen (figur 5).

Tabell 2. Sammanställning av den statistiska bearbetningen för respektive metods skillnad i provsvar mellan körningar 1 och 2 (n=31), och mellan sjukhusen SÄS och SU (n=31).

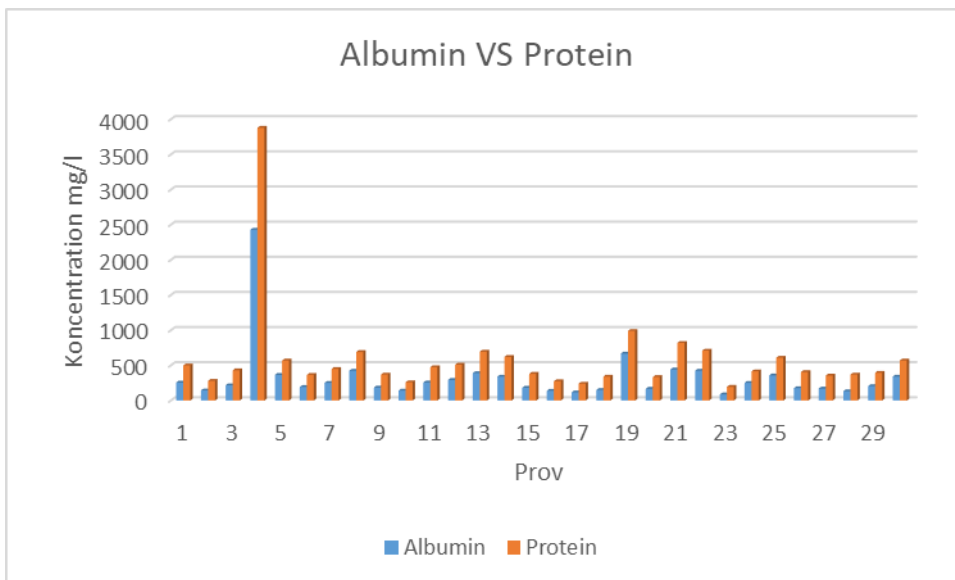
Fel	Albumin SÄS (mg/l)	Albumin SÄS-SU (mg/l)	Protein SÄS (mg/l)
Medel skillnad	7	19	10
STDAV	8	19	0
Relativt fel	2%	5%	2%



Figur 5. Förhållande mellan provsvaren för metoden spinal-albumin mellan sjukhusen SÄS och SU.

3.3. Korrelation mellan metoderna

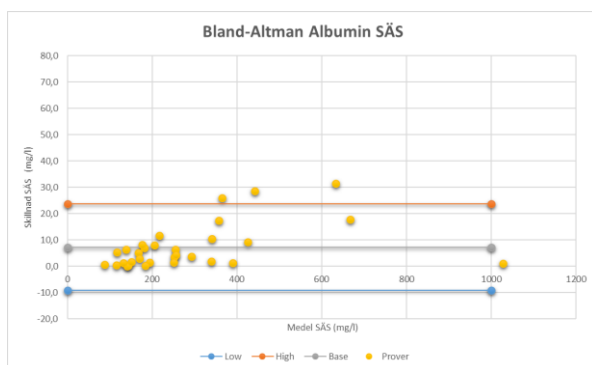
En korrelationsanalys mellan spinal-albumin och totalprotein gav $R=0,998$. Provsvarerna för spinal-albumin förväntades vara lägre men följa samma mönster. För att visa detta gjordes ett stapeldiagram där provsvaren för båda metoderna finns, där går det tydligt att se att totalprotein alltid är högre än albumin (figur 6).



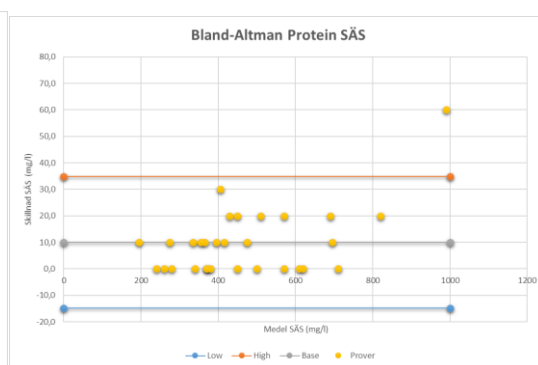
Figur 6. Koncentrationerna för albumin och protein i de olika proven.

3.4. Bland-Altman analys

En Bland-Altman analys gjordes för att se hur felet står i relation till koncentrationen för respektive metod. Ett 95%-konfidensintervall bestämdes för felet. I diagrammen kan det ses att felmarginalerna är mindre för spinal-albumin jämfört med spinal-protein och att felet ökar med ökad koncentration.



Figur 7. Avvikelsens fördelning över medelvärdet av koncentrationen för albuminmetoden.



Figur 8. Avvikelsens fördelning över medelvärdet av koncentrationen för total-protein

3.5. Precisionskörning

CV% för den korta serien var 1,3% och för mellanserierna 8,9 % vid ca 15 mg/l (nivå 1), och 2,6 % vid ca 89 mg/l (nivå 2). CV% för den korta serien och mellanseriens nivå 2 anses som mycket bra medan mellanserierna nivå 1 har en acceptabel mätosäkerhet. Mätosäkerheten ska vara lika med eller mindre än 10 % för att precisionen ska vara accepterad.

3.6. Prisjämförelse

Kostnadsskillnaden för reagensen var 5 kr per analyserat prov. Prisskillnaden för det totala analyspriset där kalibratorer, reagens och förbrukningsvaror ingår var ca 30 kr.

Tabell 3. Kostnaden för reagens och analys per kört prov och skillnaden i priserna mellan analysmetoderna spinal-albumin och spinal-protein

Pris	Albumin (kr)	Protein (kr)	Skinad (kr)
Analys	44,5	13,38	31,1
Reagens	5,81	0,64	5,2

4. Diskussion

4.1. Metoddiskussion

Det finns två huvudanledningar till varför laboratoriet vill ersätta spinal-albumin mot spinal-protein. Den första är att spinal-albumin är en mer exakt metod. Protein ges i g/l medan albumin ges i mg/l, små förändringar syns tydligare med spinal-albumin. Spinal-albumin ger även en bättre bild av BBB funktion och tillstånd eftersom albumin enbart produceras i levern så måste det passera BBB för att komma in i CSF. Läkarna är oftast intresserade av funktionen i BBB eftersom den påverkas vid många nervsjukdomar och kan visa sjukdomsförloppet och hur en eventuell behandling fungerar för patienten.

Det finns många läkare på SÄS som efterfrågar analysen. Laboratoriet fungerar som en serviceenhet för sjukhuset och man vill anpassa analyserna till efterfrågan. Det är också viktigt att undanröja risken för felbedömning då koncentrationen av spinal-albumin är ungefär 50 % lägre än spinal-protein. Om läkarna bedömer dessa fel kan det äventyra patientsäkerheten, vilket gör det viktigt att både införa analysen och att ge en tillräcklig

information om analyserna som finns för att läkarna ska förstå skillnaden mellan dem (enligt kommunikation med personal på klin kem lab. SÄS).

4.1.1. Spinal-Albumin

Idag använder laboratoriet kontrollen MAS UrichemTrak Controls (Thermo scientific) som innehåller en blandning av humant och icke-humant albumin. Beckman Coulter som tillverkar instrumentet AU5800 som proverna analyseras på rekommenderar att kontroller som används enbart ska innehålla humant-albumin. Kontrollerna har dock inget känt värde för albumin, vilket gör att man enbart kan se att maskinen mäter samma proteinvärde varje gång men inte om detta värde faktiskt är korrekt för spinal-albumin. Detta gör att kontrollerna kan utgöra en felkälla. Idag genomförs ett arbete på laboratoriet för att hitta andra kontroller som kan ersätta de nuvarande. Kontrollerna borde dessutom ha en högre koncentration jämfört med den som de har nu. Lämpligt vore att ha tre kontroller med koncentrationerna 100 mg/l, 250 mg/l och 500 mg/l.

På laboratoriet har det tidigare gjorts försök där CSF-vätskan frystes ner. Analysen av dessa gav dock mycket felaktiga resultat trots att det i metodbeskrivningen står att frysta prover ska kunna användas. Ingen förklaring hittades till problemet. Det är möjligt att anledningen är att albuminmolekylen är känslig för kraftiga temperaturskillnader och om den utsätts för detta så kommer proteinet att denaturera (Nicholson, 2000). Därför bör det i framtiden göras ytterligare studier där provresultat jämförs mellan analys på samma prover före och efter att proverna frysts ner i några dagar.

Om CSF provet har en koncentration av konjugerat bilirubin på mer än 0,4 mg/l eller mer än 5 mg/l hemoglobin kommer dessa ämnen att interferera med bestämningen av albuminkoncentrationen (Beckman Coulter, 2015) Eftersom man bland annat analyserar hemoglobin och bilirubin i CFS kan man ta hänsyn till höga koncentrationer av dessa vid tolkning av svaret.

Ytterligare en felkälla som kan uppkomma är om CSF provet inte analyseras i ett polypropen-rör. Om provet tas i rör av andra material kan proteinerna fastna i rörmaterialet och ge en falskt lägre koncentration än vad patienten faktiskt har.

Något som bör införas är standardisering av vilken provvolym som tas samt inkludera hur många rör och vilket rör som går till vilken analys. Det har gått att se skillnader i analysresultatet beroende på hur mycket CSF som tas och om det är första mängden CSF eller sista som analyseras. Den mängd som föreslås är 12 ml uppdelat i 4 rör och att det första 4 ml ska användas till analys av proteiner av olika slag. Anledningen till att standardiserad mängd och hanteringssätt borde införas är för att underlätta jämförelse mellan patientgrupper och mellan friska och sjuka patienter. Det kan vara svårt att göra jämförelserna på en internationell eller nationell nivå och detta skulle underlättas med regionala standardiseringar. Det måste inte nödvändigtvis vara de nämnda volymerna ovan men dessa har föreslagits i en tidigare studie (Blennow et al, 1993).

Metoden för spinal-albumin visade goda resultat men kan bli mer exakt genom att också beräkna kvoten mellan spinal-albumin och serum-albumin. Detta eftersom mängden albumin i blodet påverkar mängden i CSF. Eftersom det nu finns en metod för spinal-albumin och det redan tidigare finns en metod för serum-albumin kan man enkelt som rutin införa att beräkna kvoten av dessa två (Ganrot et al., 1974).

4.1.2. Spinal-protein

Vid analys av total-protein finns 13 identifierade ämnen som kan interferera och ge en osäker koncentrationsbestämning, dock är det inte specificerat vilka som gäller för CSF-prover. Cu^{2+} , Fe^{3+} , bilirubin och glukos är några av de 13 ämnena som vid hög koncentration i prover stör bestämningen av koncentrationen (Beckman Coulter, 2017.).

4.2. Resultatdiskussion

Resultatskillnaden mellan SÄS och SU har ingen direkt eller uppenbar förklaring, en egen teori skulle kunna vara att det beror på tidsskillnaden för när proverna är analyserade. Eftersom det tar längre tid innan SU-provet analyseras kan delar av provet avdunsta, vilket kan leda till att albumin koncentrationen höjs. Eftersom skillnaden inte är oroväckande stor för att kunna införa albuminmetoden så kommer ingen fortsatt undersökning att krävas.

Fördelen med att använda spinal-albumin metoden är att man får en mycket bättre bild av BBB jämfört med spinal-protein. Detta är en fördel vid nervsjukdomar som påverkar BBB, såsom MS. Fördelen med att göra analyserna på SÄS är att provsvaren kommer snabbare och justeringar i behandling kan göras fortare.

Tidigare gjorda studier har visat på att det kan finnas en korrelation mellan kroppsmassa och CSF-albumin koncentration. Idag tar man enbart hänsyn till patientens ålder, men i framtiden kanske man ska ta mer hänsyn till detta vid utvärdering av ett analys svar (Seyfert et al. 2002).

Då metoderna för spinalalbumin och totalprotein jämfördes visades ingen större tidsskillnad, vilket var ett väntat resultat eftersom samma förarbete och maskin används för båda analyserna. Eftersom maskinen är densamma blir det inte heller någon skillnad i arbetsmiljön. Rummet där maskinen står har en hög ljudvolym. Ett arbete med att byta maskiner är på gång och förhoppningsvis har det nya de en lägre ljudnivå, om inte så bör man tillhandahålla öronskydd för personalen. Vid prisjämförelsen noterades att det skiljer 30 kr/analys vilket är en relativ stor skillnad. För ett sjukhus blir inte skillnaden speciellt stor men desto större blir skillnader för en liten klinik. Kostnader för en analys är något man bör tänka på innan man byter två metoder, i vissa fall kan det vara bra att ha kvar båda. I detta fall tror jag däremot att fördelarna med analysen överväger nackdelarna och jag tror att kostnaden och arbete blir större av att försöka hålla igång båda analyserna.

5. Slutsatser

Som skrivet ovan så kommer inte arbetsmiljön att påverkas på kort sikt, men eftersom ett maskinbyte är pågående så kommer arbetsmiljön att förbättras. Underhållet av maskinerna kommer att gå snabbare och maskinerna kommer att låta mindre.

Provsvaren på spinal-albumin kommer att kunna ges ut snabbare än idag eftersom proven inte behöver skickas vidare till SU däremot är svarshastigheten samma mellan spinal-albumin och spinal-protein så där blir det oförändrat.

Kostnaden för laboratoriet kommer att öka eftersom reagenskostnaden är högre, dock ingår det i det beräknade priset vilket gör att på lång sikt blir kostnaden oförändrad. Kostnaden blir å andra sidan permanent högre för de som beställer analysen.

Resultatsäkerheten kommer att öka med den nya metoden eftersom fler värdesiffror används och metoden har en lägre avvikelse än sin föregångare, spinal-protein.

Det finns en resultatskillnad mellan SÄS och SU, men som nämnts ovan är inte skillnaden tillräcklig för att det ska hindra införandet av albuminmetoden.

Spinal-albumin uppfyller kraven för att kunna ersätta metoden spinal-protein. Den kommer succesivt att bytas ut och med största sannolikhet kommer metoderna att köras parallellt för en tid innan spinal-protein tas ur bruk.

Tackord

Min studie hade inte varit möjlig utan hjälpen från personalen på laboratoriet för klinisk kemi, Södra Älvsborgs sjukhus och min laborationshandledare Erika Karlsson, så ett stort tack till er. Ytterligare ett stort tack till min skrivhandledare Bodil Hernroth, som svarat på mail oavsett dag, som granskat delar av min uppsats även på nyårsafton, utan dig hade jag aldrig fått ihop mitt skrivande och mina tankar. Ett sista stort tack till Rune Ziethén för all din hjälp med den statistiska analysen, för att du orkat med alla mina frågor och ditt tålamod när jag inte förstod och var frustrerad. Utan alla er hjälp hade jag aldrig lyckats med mitt arbete, så tack.

Referenser

- Beckman Coulter. (2015) AU Bruksanvisning UALB urine/CSF albumin.
- Beckman Coulter. (2017) AU Bruksanvisning UP urine/CSF protein.
- Blennow, K. Fredman, P. Wallin, A. Gottfries, C.G. Långström, G. Svennerholm, L. (1993) Protein Analyses in Cerebrospinal Fluid. *European neurology*. vol 33, nr 2. DOI:10.1159/000116918
- Brunzel, N.A (2004) *Fundamentals of urine & body fluid analysis*. Saunders. Up 2, ss. 326-330, 334-335, 337.
- Cramer, G. D. Darby, S. A. (2014) *Clinical Anatomy of the spine, spinal cord and ANS*. Mosby. Up 3.
- Daneman, R. and Prat, A. (2015) The Blood–Brain Barrier. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. DOI: 10.1101/cshperspect.a020412
- Engelhardt, B. & Sorokin, L. (2009) The blood–brain and the blood–cerebrospinal fluid barriers: function and dysfunction. *Semin Immunopathol*. vol 31, ss. 497–511. DOI 10.1007/s00281-009-0177-0
- Fridh, A-L. Siljehov, A. (2017) Hur gör man med liquorprover?. Instruktionspapper, SÄS.
- Ganrot, K. Laurell, C-B. (1974) Measurement of IgG and Albumin Content of Cerebrospinal Fluid, and Its Interpretatio. *Clinical Chemistry*. Vol. 20, Nr.5, ss. 574-573.
- Karcher, D.S och McPherson, R.A. (2017) *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. Elsevier Inc. up 23, ss. 481-508.e6
- Kricka, L.J och Park, J.Y. (2018) *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Elsevier. Kap 13, ss. 200–223, 348–367.
- Kommunikation med personal på klin kem lab. SÄS
- Lund-Egtoff, D. Löwbeer, C. (2014) *Klinisk kemi kortfattad analytolkning*. Studentlitteratur. Up n1:3, ss. 26
- Nicholson, J. P. Wolmarans, M. R. Park, G. R. (2000) The role of albumin in critical illness. *Br j Anaesth*. volym 85, ss. 599–610.
- Nilsson-Ehle, P. Berggren Söderlund, M. Theodorsson, E. (2013) *Laurells klinisk kemi i praktisk medicin*. Studielitteratur. Up 9:3, ss. 86–87, 116–117.
- Pincus, M.R. Lifshitz, M.S. och Bock, J.L. (2017) *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. Elsevier Inc. up 23, ss. 33-59.
- Pubchem, open chemistry databas. serum albumin (1-24). Hädat 2018.01.12. upd 2018.01.06. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/16132389#section=Top>
- Seyfert, S. Kunzmann, V. Schwertfeger, N. Christian Koch, H.C. Faulstich, A. (2002) Determinants of lumbar CSF protein concentration. *Original communicationss*. 1021-1026. DOI: 10.1007/s00415-002-0777-2
- Winn, H. R. (2017) *Youmans and Winn Neurological Surgery*. Elsevier. Up7, ss. 407-423, 281