Laboratoriemedicin

Godkänt datum 2025-06-30

U-Kortisol på LC-MS/MS

tU-Kortisol (NPU01786)

Kortisol (NPU04360)

Bakgrund, indikation och tolkning

Kortisol är den viktigaste glukokortikoiden hos människa. Det bildas i binjurebarkens zona fasciculata och zona reticularis. Syntes och sekretion stimuleras av ACTH, varför kortisolkoncentrationen i plasma varierar under dygnet med högst koncentration på morgonen och lägst vid midnatt. Omkring 90 % av kortisol i plasma är proteinbundet (transkortin c:a 75 % och albumin c:a 15 %). Huvudparten av den bildade mängden kortisol metaboliseras i levern och utsöndras som olika inaktiva derivat i urinen, huvudsakligen konjugerat med glukuronsyra och svavelsyra. Normalt filtreras endast små mängder fritt kortisol ut i urinen. Vid kraftigt ökade koncentrationer av kortisol i plasma överskrids transkortinets bindningskapacitet och man får en ökad utsöndring av fritt kortisol i urinen. Analys av kortisol i serum och/eller urin utgör förstahandsanalys vid utredning av misstänkt rubbning i binjurebarkfunktionen [1].

Förhöjda värden förekommer vid Cushings syndrom, behandling med ACTH, kortisol och kortison samt vid stress. Sänkta värden ses vid binjurebarkinsufficiens (primär och sekundär) och efter tillförsel av syntetiska glukokortikoider, ex. Dexametason [1].

Analysprincip

Metoden mäter kortisol med deutererad kortisol (kortisol-d4) som intern standard (IS). En portion av insamlad dygnsmängd urin blandas med metanol som innehåller IS. Provet fälls, och centrifugeras varefter spädd supernatant analyseras med masspektrometri (LC-MS/MS), en teknologi som kännetecknas av god känslighet och mycket hög specificitet.

LC-MS/MS instrumentet är av typen trippel kvadrupol masspektrometer kopplat till en HPLC. Separation av olika provmolekyler sker i en HPLC-kolonn. Joniseringen sker enligt principen API ES (atmospheric pressure ionisation electrospray). I första kvadrupolen selekteras molekyljonen för aktuell komponent. I andra kvadrupolen fragmenteras molekyljonen med en för denna jon specifik energi och i den tredje kvadrupolen selekteras ett av molekyljonens fragment, vanligtvis det med störst intensitet. Den resulterande jonintensiteten mäts med en elektronmultiplikator.

Kortisol är möjlig att detekteras både på positiva och negativa joner. I denna metod detekteras kortisol i negativ mode på format-addukten.

Urinprovets kortisolkoncentration beräknas med hjälp av kalibratorer med kända koncentrationer där den till varje prov tillsatta mängden deutererad kortisol används för att kompensera för experimentella och instrumentella variationskällor.

Referensintervall

U-kortisol: Saknas

tU-Kortisol: 38-170 nmol/dygn [3]

Metodkarakteristika

Interferenser och felkällor

Vid metodutvecklingen och metodvalideringen har åtgärder vidtagits [7,9] för att kontrollera och eliminera eventuella interferenser och felkällor vilka vid LC-MS/MS även i normalfallet är små.

Mätområde

Komponent	**Enhet**	**Kvantifieringsgräns**	**Mätintervall**
U-kortisol	nmol/L	2,0	2-1000

Mätosäkerhet (enligt årsgenomgång 2024)

Komponent	**Låg kontroll**		**Hög kontroll**	
	Börvärde (nmol/L)	CV%	Börvärde (nmol/L)	CV%
U-Kortisol	8.3	4.4	518	2.0

Riktighet

Kontroll av riktigheten sker genom deltagande i externt kontrollprogram (UK NEQAS).

Spårbarhet

Kalibreringen är spårbar via analyscertifikat från leverantör av referenssubstans.

Övrig information

U-Kortisol är ackrediterad.

Normal analysfrekvens 1 gång/vecka.

Referenser

1. Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin, 9:e upplagan Studentlitteratur 2012, 311-12.
2. E.de Hoffman, V Strobant. Masspectrometry, Principles and Applications, 2th.ed. Chichester, England. John Wiley & Sons, Ltd. P.33-44.
3. U Turpeinen and U.-H Stenman. Determination of urinary free cortisol by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Scand J Clin Lab Invest 2003,63:143–150.
4. Instrumenthandledning LCMSMS AB Sciex QTrap 5500-1, Lund. Dok ID 9673186
5. Instrumenthandledning LCMSMS AB SCIEX QTRAP 6500plus-2. Dok ID 9643621
6. Utvärdering i programvara Analyst, Specialkemi 1. Dok ID 9677278
7. Turpeinen U, Markkanen H, Välimäki M Stenman U-H. Determination of urinary free cortisol by HPLC. Clin Chem 1997; 43: 1386–91.
8. Hamilton Microlab STARlet Robot (Merkurius och Venus). Dok ID 9643619
9. Valideringsprotokoll U-Kortisol metodmodifiering. Dok ID 17-578
10. U-kortisol på 6500plus2 – Verifiering. Dok ID 23-222
11. Analysprotokoll Kortisol, Dok ID 9644414