

Betydningen av valg av DNA isoleringsmetode ved testing av høyrisiko HPV

Av Irene T. Øvestad, bioingeniør og Msc, Avdeling for patologi, Stavanger universitetssykehus, Emiel A. M. Janssen, PhD, Avdeling for patologi, Stavanger universitetssykehus, og Jan P. A. Baak, Prof. Dr. Med, Avdeling for patologi, Stavanger universitetssykehus. Gades Institutt, Universitetet i Bergen, Fri Universitet Amsterdam, Nederland.

Artikkelen bygger på en undersøkelse publisert i det indiske tidsskriftet "Indian Journal of Pathology and Microbiology" (Vol 50, 2007).

Sammendrag

Livmorhalskreft er den nest hyppigste årsaken til at kvinner dør av kreft verden over og persistent infeksjon med høyrisiko humant papillomavirus (HPV) er hovedårsaken til cervikal intraepitelial neoplasia (CIN) og kreftutvikling. Testing for høyrisiko HPV (hr-HPV) er mye brukt, men de forskjellige DNA isoleringsmetodene kan gi forskjellige resultater ved PCR-analysering. For å evaluere betydningen av forskjellige metoder, ble DNA isolert fra 180 tilfeldig utvalgte cervix-prøver med tre ulike metoder: 1. Det manuelle Amplilute kit. 2. En standard automatisert MagNAPure LC (MPLC) protokoll. 3. En modifisert protokoll av MPLC med bruk av større prøvevolum. DNA ble så testet for hr-HPV med AMPLICOR® HPV-test, og HPV-genotype ble bestemt med Linear Array (LA) test.

Resultatene viste overensstemmelse mellom de tre DNA isoleringsmetoder på 90 – 93 prosent for AMPLICOR®-testen og 88 – 92 prosent for LA-testen. Sensitiviteten, spesifisiteten og prosentandelen falske negative og falske positive, sammenlignet med hr-HPV subtyper detektert med LA, er lik for den manuelle testen og standard MPLC, mens spesifisiteten for den modifiserte MPLC var mye lavere og prosentandelen falske positive mye høyere.

Konklusjonen er at både manuell metode og standard MPLC DNA isoleringsmetode gir gode HPV resultater. Standard MPLC er den raskeste DNA isoleringsmetoden.

Introduksjon

Livmorhalskreft er den nest hyppigste årsaken til at kvinner dør av kreft verden over. Mulighetene for helbredelse er nesten 100 prosent hvis diagnosen stilles på et tidlig stadium, fortrinnsvis før utvikling av invasiv kreft. Persistent infeksjon med humant papillomavirus (HPV) er hovedårsaken til cervikal intraepitelial neoplasia og kreftutvikling, og på verdensbasis har det vært årsaken til nesten 100 prosent av cervikale plateepitel carcinom(1-3). Blant annet på grunnlag av dette blir det i de nasjonale retningslinjene i Norge foreslått HPV-testing av alle kvinner med diagnosene atypisk skvamøs celleforandring av usikker betydning (ASCUS), lavgradig skvamøs lesjon (LSIL) og for prøver som er uegnet for cytologisk diagnose.

Abstract

High-risk human papillomavirus (hr-HPV) testing is widely used, but different DNA isolation methods may give variable results in PCR determinations. To evaluate the effect of different DNA isolation methods on the HPV results DNA was isolated from 180 consecutive cervical samples with the manual Amplilute kit, or the standard automated or a modified MagNAPure LC (MPLC) protocol. The DNA was then tested for hr-HPV with the AMPLICOR® HPV test, and the HPV-genotype was determined with the Linear Array (LA) test.

The concordance of the three DNA isolation methods is 90 – 93 %, and 88 – 92 % between the HPV tests from DNA isolated by any of the three isolation methods and LA. The sensitivity, specificity, percentage of false negatives and false positives compared to the LA-detected hrHPV subtypes are similar for the manual and standard MPLC, but the specificity of the modified MPLC was much lower and the percentage of false positives much higher.

In conclusion both the manual and standard MPLC DNA isolation methods give good HPV results. The standard MPLC is the fastest DNA isolation method.

Det finnes mer enn 100 forskjellige genotyper av HPV og cirka 40 av disse kan infisere den genitale mucosa (1). Et utvalg av disse seksuelt overførbare virale genotypene er assosiert med høygradig cervikal intraepitelial neoplasia (CIN-grad 2 og 3) og invasiv kreft. PCR-baserte HPV-DNA tester er nå kommersielt tilgjengelige og standardiserte. Kvaliteten av DNA som analyseres er imidlertid av stor betydning når det gjelder resultatene av disse testene. Det finnes mange forskjellige kommersielle kit tilgjengelig for å ekstrahere DNA, men det er uklart om ulike isoleringsmetoder med bruk av de forskjellige kittene vil resultere i variable HPV bestemmelser. Vi ønsket derfor å evaluere hvilken effekt forskjellige DNA isoleringsmetoder hadde for 180 tilfeldig utvalgte, væskebaserte cytologiske prøver med diagnosen ASCUS, LSIL eller prøver uegnet for cytologi på resultatet av AMPLICOR PCR-basert HPV test (AMPLICOR, Roche). Testen er validert for manuell DNA-ekstraksjon med den tidkrevende "Amplilute liquid media extraction kit". Magpure LC (MPLC) metoden er en raskere, fullautomatisert plattform for DNA-ekstraksjon, basert på magnetkuleteknologi. Dette minimaliserer sjansene for krysskontaminering, som er avgjørende når det senere anvendes i PCR. Resultatene fra en pilotstudie (upublisert) indikerte at den manuelle metoden noen ganger var positiv for høyrisiko HPV (hr-HPV), men negativ med MPLC. Vi utviklet derfor en modifisert MPLC-metode som gir et høyere DNA utbytte. Vi sammenlignet deretter DNA ekstrahert med manuell metode, en standard og en modifiserte MPLC-metode på hr-HPV påvist med AMPLICOR. Alle prøvene ble også analysert og genotypet med Linear Array (LA, Roche).

Metoder

Ifølge nasjonale retningslinjer i Norge anbefales HPV-testing for kvinner i aldersgruppen 25-69 år med diagnosen ASCUS, LSIL og prøver uegnet for cytologidiagnose. Den rutinemessige cytologiske undersøkelsen ble utført i 180 tilfeldig utvalgte cervikale væskebaserte cytologiske prøver (Thin prep, PreservcytTM, Marlborough, MA, USA) fra pasienter som deltar i det nasjonale norske screeningprogrammet og som ble mottatt på Avdeling for patologi ved Stavanger Universitets sykehus. For pasienter som oppfylte kravet for HPV-bestemmelse ble DNA-isolering, HPV-testing (positiv eller negativ) og HPV-genotyping utført.

DNA isoleringsmetoder

Den første DNA isoleringsmetoden som ble brukt var den manuelle AMPLICOR[®] Amplilute Liquid media extraction Kit, (CE godkjent) (Roche Molecular systems, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany), basert på den manuelle Qiagen QIAmp MinElute vakum metoden (QIAGEN, Valencia, CA, USA). Cellene lyses ved tilsetning av proteinase K og et denaturerende stoff. Lysatet overføres til en affinitetskolonne, og nukleinsyrene renses ved tilsetning av en vaskeløsning, og frigjøres fra kolonnen med elueringsbuffer. Protokollen bruker 250 µl prøvemateriale og 120 µl elueringsbuffer.

Den andre DNA isoleringsmetoden var den automatiserte MPLC (Roche Molecular systems, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Lysering utføres ved tilstedeværelse av proteinase K og et denaturerende stoff med påfølgende isolering og rensing av de frigjorte nukleinsyrene på magnetiske silikonpartikler. Til isoleringen ble det brukt 200 µl prøvemateriale, 100 µl elueringsbuffer og 10 µl fortynningsbuffer.

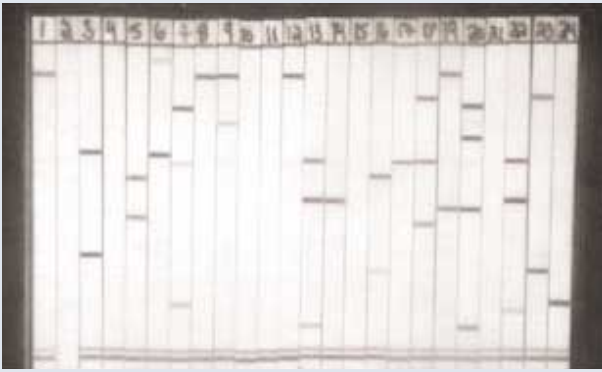
Den tredje metoden var en modifisert MPLC-protokoll med bruk av et større volum cytologisk prøvemateriale. 1 ml prøvevolum ble sentrifugert ved 13,000 rpm i 20 minutter, supernatanten ble dekantert og pelleten ble rekonstituert i 200 µl PBS. De påfølgende trinn ble utført i henhold til Roche standardprotokoll og ekstrahert med "DNA - isoleringskit I" og MPLC protokollen "DNA-I- blood cells- High Performance", med sluttvolum 110 µl (se ovenstående). For alle isoleringsmetodene ble en positiv og en negativ kontroll tatt med i hver analyseringsrunde.

AMPLICOR HPV test

AMPLICOR[®] HPV-test (Roche Molecular systems, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) ble brukt for HPV og β-globintesting av alle prøvene isolert med de tre DNA isoleringsmetodene. Testen tillater samtidig amplifisering av HPV mål-DNA fra 13 hr-HPV genotyper og fra β-globin genet som en kontroll på DNA-kvaliteten. Det ble brukt 50 µl DNA-ekstrakt i PCR-oppsettet. AMPLICOR[®] HPV-testen er en kvalitativ in vitrotest basert på amplifisering av mål-DNA med PCR, etterfulgt av nukleinsyre hybridisering med ELISA-test for å påvise hr-DNA. Et utvalg av HPV primere er designet for å amplifisere HPV DNA fra 13 høyrisiko genotyper (16, 18, 31, 33 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 and 68). Primerne definerer en sekvens i et 165- bp stort område innenfor det polymorfe L1 genet i HPV genomet. I tillegg er et primerpar målrettet det humane β-globingenet for å amplifisere et 268 bp amplikon. Dette er en intern kontroll for et adekvat antall celler, ekstraksjon og amplifisering. PCR ble utført i en GeneAmp PCR System 9700 med gullblokk (Applied Biosystems, Foster City, CA). Oligonukleotid prober hybridiseres til det amplifiserte produktet ved bruk av Elisa-teknikk og påvises med kolorimetrisk bestemmelse slik det er beskrevet i instruksjonsprotokollen.

Linear Array HPV Genotyping Test

Roche Linear Array[®] HPV Genotyping test ble brukt til å genotypere de påviste HPV-ene. Denne testen bruker biotinmerkede primere til å definere en sekvens på omtrent 450 bp innenfor L1-



Figur 1. En representativ Linear Array strip. Den første rekken (linje 1) er den positive kontrollen og den andre rekken (linje 2) er den negative kontrollen.

genet til HPV genomet. En samling primere amplifiserer HPV DNA fra 37 HPV genotyper (6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, 89 og IS39 (subtype av 82)). Gruppen på 16 høyrisiko genotyper (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82, og IS39) inkluderer også de 13 genotypene som inngår i AMPLICOR HPV test. I tillegg blir grupper av sannsynlig høyrisiko (26, 53 og 66), uklassifiserte (55, 57, 62, 64, 67, 69, 71, 83, 84, og 89), og lavrisiko (6, 11, 40, 42, 54, 61, 70, 72 og 81) genotyper påvist. Et primerpar er rettet mot det humane β -globin gen som kontroll på adekvate celler, DNA-ekstraksjon og amplifisering. LA HPV genotypetest amplifiserer et område med en tilnærmet lengde på 450 bp innenfor L1 gen et i HPV genomet. Amplifiseringstrinnet ble utført i henhold til Roche brukermanual i Applied Biosystems Gold-plated 96-Well GeneAmp PCR System 9700. Etter et denatureringstrinn, hybri-

diseres ampliconene (75 μ l) til oligonukleotider på HPV genotyping strips og blir påvist kolorimetrisk ved bruk av den anbefalte linear array (LA) protokollen. LA HPV genotype stripsene ble manuelt avlest av to observatører ved bruk av den tilgjengelige Linear Array HPV Genotyping Test Reference Guide. Hver linje på stripsen representerer en HPV genotype i en prøve. Ved å sammenligne den eksakte posisjonen til en linje med referanseguiden, blir genotypen identifisert (figur 1). Strekene som representerer β -globin-genet blir observert som en kontroll for hver individuelle prøve som kjøres.

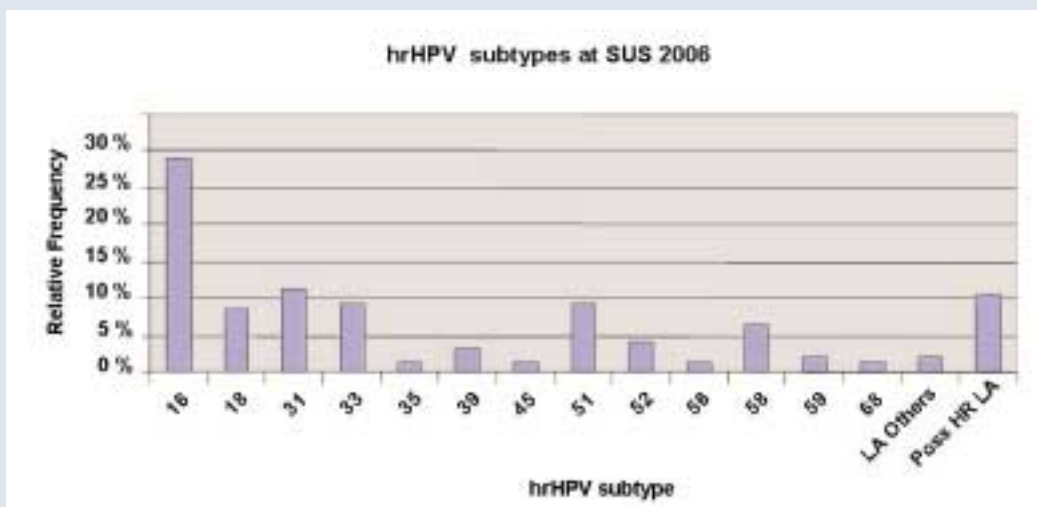
Statistikk

LA detekterer 16 hr-HPV typer, det er tre (73, 82 og IS39) flere enn AMPLICOR HPV test. I tillegg er det tre "sannsynlig høyrisiko" HPV typer som detekteres av LA (26, 53 og 66). Vi sammenlignet bare de HPV typene som kan detekteres av både AMPLICOR HPV og LA testen. Det vil si at når en HPV genotype i en prøve ble detektert av LA (og derfor ble klassifisert som "HPV-positive") og denne ikke var detekterbar med AMPLICOR testen (og derfor ble klassifisert som negativ) ble ikke dette betraktet som en uoverensstemmelse i klassifiseringen. HPV resultater som AMPLICOR HPV-testen ikke er designet til å detektere, ble klassifisert som "HPV-negative" selv om de var HPV positive ifølge LA. Forskjellene i klassifiseringsresultat ble analysert med Kjøkvadrat-testen og $p = 0,05$ ble brukt som terskel på signifikans.

Resultater

DNA-kvaliteten

Kvaliteten på det isolerte DNA og hvor godt egnet det er for PCR-amplifisering er sikret ved detekteringen av β -globin-genet.



Figur 2. Den relative frekvensen av forekomsten av de forskjellige hrHPV subtype i materialet som er brukt. HPV subtype 16 og 18 utgjør samlet 37 prosent og subtype 31, 33, 51 og 58 samlet 35 prosent av alle tilfellene.

Tabell 1: Sammenligning av HPV test resultater med DNA ekstrahert manuelt og med standard MPLC metoden.

		Standard, automatisert MPLC DNA isolerings metode		Totalt
		Negative	Positive	
Manuell DNA isolering	Negative	82	7	89
	Positive	10	81	91
Totalt		92	88	180

HPV – humant papillomavirus; MPLC – MagNAPure LC

Overensstemmelse = 163/180 (100%) = 91%

Tabell 2: Sammenligning av AMPLICOR HPV test resultater med DNA ekstrahert manuelt og med modifisert MPLC.

		Standard, automatisert MPLC DNA isolerings metode		Totalt
		Negative	Positive	
Manuell DNA isolering	Negative	80	9	89
	Positive	4	86	90
Totalt		84	95	179

HPV – humant papillomavirus; MPLC – MagNAPure LC

Overensstemmelse: 166/179 (100%) = 93%

Tabell 3: Sammenligning av HPV test resultater med DNA ekstrahert med standard og modifisert MPLC.

		Modifisert automatisert MPLC DNA isolerings metode			Totalt
		Negative	Positive	Missing	
Standard automatisert MPLC DNA isolerings	Negative	79	13	0	92
	Positive	5	82	1	88
Totalt		84	95	1	180

HPV – humant papillomavirus; MPLC – MagNAPure LC

Overensstemmelse: 161/179 (100%) = 90%

Frekvensen for β -globin-positivitet varierte fra 98,9 prosent ved manuell isolering til 98,3 prosent for den automatiserte, standard MPLC isoleringsmetoden, og 100 prosent for den modifiserte MPLC isoleringsmetoden. De få β -globin-negative tilfellene var alle positive på HPV. Dette viser at DNA som ble brukt var adekvat for alle kasus.

Sammenligning av de tre DNA isolerings metodene

Sammenligning av AMPLICOR HPV resultatene for den manuelle og de to automatiserte ekstraksjonsmetodene viste en signifikant overensstemmelse på 91 prosent for den manuelle vs. standard MPLC protokoll, 93 prosent for den manuelle vs. den modifiserte MPLC, og 90 prosent for standard vs. modifisert MPLC (tabell 1-3). Med standard MPLC protokoll var det et lite antall flere negative tilfeller enn med den manuelle metoden (10 versus 7). Dette var ikke en signifikant forskjell. Den modifiserte MPLC protokollen medførte 16 AMPLICOR HPV-positive resultater som ikke ble påvist med LA, mot 8 og 9 for de andre meto-

dene. Positive og negative kontroller for alle kjøringene med de forskjellige isoleringsmetodene var gyldige.

Sammenligning av HPV resultat fra AMPLICOR og Linear Array

På grunn av mangel på materiale var det 177 av 180 prøver med manuelt isolert DNA som ble genotypet med LA. I tillegg var det ikke tilstrekkelig materiale i en av prøvene for analysering med modifiserte MPLC, totalt 176 pasienter. Variasjonen av HPV typer som ble oppdaget med LA var overveldende, 33 (32 prosent) av prøvene viste infeksjon med bare en hr-HPV type, mens de resterende ($n = 63 = 68$ prosent) viste kombinasjoner av 2,3 eller flere hr-HPV typer. Ikke overraskende var det type 16 (enten enkeltvis eller i kombinasjon med andre HPVgenotyper) som var hyppigst forekommende, men genotypene 31, 33, 51 og 58 viste også hyppig forekomst og utgjorde 35 prosent av alle de hr-HPV positive prøvene (figur 2).

Sammenligning av resultater mellom LA genotyping og AMPLICOR HPV test ga ingen signifikante forskjeller. Tabell 4

Tabell 4. Korrelasjon mellom HPV-testresultatene og de tre forskjellige DNA-isoleringsmetodene med sensitivitet, spesifisitet, falske negative og positive. Linear Array HPV- genotypingtest ble brukt som gullstandard, men bare for de genotypene som også kunne påvises med AMPLICOR HPV test. Den samlede klassifiseringen for den manuelle, standard og modifisert MPLC er henholdsvis 92, 92 and 88%.

LA resultat	Manuell metode				
	Negative	Positive	Totalt	Spesifisitet (falske positiv)	Sensitivitet (falske negativ)
Negative	83	10	93		95% (5%)
Positive	4	80	84	89% (11%)	
Totalt	87	90	177		

LA resultat	Standard MPLC metode				
	Negative	Positive	Totalt	Spesifisitet (falske positiv)	Sensitivitet (falske negativ)
Negative	84	9	93		93% (7%)
Positive	6	78	84	90% (10%)	
Totalt	90	87	177		

LA resultat	Modifiserte MPLC method				
	Negative	Positive	Totalt	Spesifisitet (falske positiv)	Sensitivitet (falske negativ)
Negative	77	16	93		94% (6%)
Positive	5	78	83	83% (17%)	
Totalt	82	94	176		

HPV – humant papillomavirus; MagNAPure LC

opsummerer sensitiviteten, spesifisiteten, falske negative og positive, i tillegg til det samlede antall riktig klassifiserte tilfeller med AMPLICOR HPV test med DNA isolert ved bruk av en av de tre forskjellige metodene og sammenlignet med resultater fra LA genotyping. HPV-funnene fra LA-testen ble brukt som den sanne positive standarden ved sammenligningen. Sensitiviteten og prosentandelen falske negative er svært lik for de tre metodene, mens spesifisiteten og prosentandelen falske positive er nesten lik for den manuelle metoden og standard MPLC. Det ble imidlertid funnet en høyere prosentandel falske positive, og derfor en lavere spesifisitet med den modifiserte MPLC-metoden.

Diskusjon

HPV-testen og HPV-genotypingtesten som ble brukt i denne studien er PCR-baserte metoder som er utviklet for å gi standardisert, reproducerbar og hurtig HPV-påvisning. Begge metodene er CE-godkjente til å brukes med den anbefalte manuelle protokollen for DNA utvinning (AmpliLute metoden) som er både tidkrevende og tungvint. MagNAPure LC er en fullautomatisert plattform til DNA-ekstraksjon som har en hurtig og effektiv prøvetilberedning og som også reduserer potensialet for krysskontaminering av prøver betraktelig. Prøvene ble testet på nytt

med Roche LA genotypingtest, og disse resultatene ble sammenlignet med AMPLICOR HPV test.

Sammenlignet med LA genotyping var den samlede overensstemmelsen for AMPLICOR HPV testresultatene 92 prosent, 92 prosent, og 88 prosent med DNA isolert med henholdsvis manuell, standard og modifisert MPLC-protokoll. Spesifisiteten for den modifiserte metoden var imidlertid mye lavere med et høyere antall falske positive. Standard-MPLC er den mest effektive DNA isoleringsmetoden. Disse resultatene er sammenlignbare med de som ble funnet i en nylig publisert studie av Stevens et al (4) som viste 97 prosent overensstemmelse mellom AmpliLute manuelle metode og standard MPLC- DNA-isoleringskit. At vi fant 92 prosent overensstemmelse skyldes sannsynligvis at et litt høyere antall pasienter ble analysert. I Steven et al sin studie, med totalt 150 tilfeller, ble det funnet fire hr-HPV negative tilfeller med den manuelle ekstraksjonen som var positive med standard MPLC, og tre tilfeller som var positive med den manuelle metoden og negative med standard MPLC metoden. I vår studie med 180 pasienter var tre prøver AMPLICOR hr-HPV positive med manuell ekstraksjon og negative med standard MPLC metoden, mens en prøve var AMPLICOR hr-HPV positiv med standard MPLC, men negativ med manuelt ekstrahert DNA.

Sammenligning av HPV- resultatene fra AMPLICOR og LA genotyping metodene viste 88 - 92 prosent overensstemmelse for alle tre DNA-isoleringsmetodene (manuell, standard og modifisert MPLC). Hovedandelen av AMPLICOR-negative tilfeller for alle ekstraksjonsmetodene var hr-HPV genotyper som ikke var målrettet med AMPLICOR HPV primerpanelet og som derfor ikke var virkelig negative. Ved sammenligning med LA var antall negative for alle de tre metodene sammenlignbare (fem, sju og seks prosent). Standard MPLC ekstraksjonsmetode gir den laveste prosentandel positive som ikke ble verifisert med LA-testen. Dette betyr at standard automatisert MPLC-metode, som også er mest tidsbesparende, er den mest praktiske metoden.

Ifølge produsenten av metodekittene (Roche) har AMPLICOR-testen en høyere sensitivitet enn LA-testen. Dette betyr at man vil forvente at LA-testen gir et lavere antall positive sammenlignet med AMPLICOR-testen. Det vil alltid være et balanseforhold i PCR, og når flere genotyper forekommer i samme prøve, kan det medføre et problem med hensyn til deteksjonsgrensen for hver enkelt genotype. Så vidt vi vet har dette aspektet hittil ikke blitt evaluert og kan være et viktig moment å ta med i en fremtidig studie.

PCR-baserte metoder er veldig sensitive, men mulighetene for krysskontaminering mellom prøver er til stede og spesielt i forbindelse med den tidkrevende manuelle metoden for DNA ekstraksjon. Resultatet av amplifisering med PCR er avhengig av DNA kvaliteten og det er av største betydning at denne er optimal.

Konklusjonen er at DNA-ekstraksjon med standard MPLC er pålitelig og tidsbesparende for testing med AMPLICOR HPV-test.

Oppsummering

- Den anbefalte manuelle DNA ekstraksjonsprotokollen (AmpliLute metoden) er tidkrevende og tungvint.
- MagNAPure LC er en helautomatisert plattform for DNA-ekstraksjon som medfører en hurtig og effektiv prøvebehandling og reduserer potensialet for kryss-kontaminering betraktelig.
- Standard MPLC er en hurtig, pålitelig metode for DNA ekstraksjon for AMPLICOR HPV testing.

Referanser

1. Roden R, Wu TC. How will HPV vaccines affect cervical cancer? *Nat Rev Cancer* 2006;7:53-63.
2. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR et al. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004;324:17-27.
3. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16:1-17.
4. Stevens MP, Rudland E, Garland SM, et al. Assessment of MagNA pure LC extraction system for detection of human papillomavirus (HPV) DNA in PreservCyt samples by the Roche AMPLICOR and LINEAR ARRAY HPV tests. *J Clin Microbiol* 2006; 44:2428-33.

Sponsorer: Analysering med Linear Array ble utført på Akershus Universitetssykehus og takk til Vigdis Lauvrak og Mona Hansen som var behjelpelig med dette. Disse analysene ble utført med økonomisk støtte fra Roche, Norway, og uten at de var kjent med resultatene fra de andre DNA bestemmelsene.

Lønnsforhandlingene i Danmark 13,3 prosent stigning over tre år

Jytte Kristensen, redaktør for det danske tidsskriftet *dbio*, skrev om den danske lønnskampen og streiken i *Bioingeniøren* 6/7 2008. Her forteller hun om resultatet: "Bioanalytikerne og resten af Sundhedskartellet kæmpede ved årets overenskomstforhandlinger for en samlet lønstigning på 15 procent. Det lykkedes ikke, men de nåede et skritt af vejen, idet de endte med en stigning på 13,3 procent over tre år. En stigning som er høyere end resten af det offentlige arbeidsmarked, der opnåede 12,8 procent.

Alle bioanalytikere får i år en lønforhøyelse på 4,08 prosent pr. 1. april 2008. Derudover er det især de erfarne bioanalytikere og afdelingsbioanalytikerne, der opnår de største lønstigninger ved OK-08. Sundhedskartellet medlemmer strejkede i hele 60 dager, før det lykkedes at indgå et forlig med arbeidsgiverne."

Les mer på www.dbio.dk

Assistert befruktning gir ikke økt risiko ved fødsel

Det konkluderer en ny studie basert på data fra over 1,2 millioner fødsler registrert ved Medisinsk fødselsregister, Folkehelseinstituttet. Komplikasjoner i forbindelse med assistert befruktning (IVF/ICSI) skyldes ikke teknikken som brukes, men er knyttet til underliggende fruktbarhetsproblemer.

Resultatene er publisert i *The Lancet*, og studien er gjennomført av forskere ved St Olavs Sykehus og Institutt for Samfunnsmedisin ved NTNU i Trondheim, og ved Medisinsk fødselsregister (MFR), Folkehelseinstituttet.

Kilde: folkehelsa.no