Laboratoriemedicin

Godkänt datum 2026-06-22

U-Kortisol på LC-MS/MS

tU-Kortisol (NPU01786)

Kortisol (NPU04360)

Bakgrund/Svar/Tolkning/Bedömning

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].

Metodik/mätprincip

Metoden 4] 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.

Litteraturkällor för referensintervall och hållbarhet

tU-Kortisol: 38-170 nmol/dygn [2,3]. Hållbarhet för kortisol i urin är hämtat från litteraturen [2,3] samt interna studier.

Interferenser och felkällor

Vid metodutvecklingen och metodvalideringen har åtgärder vidtagits [5-7] för att kontrollera och eliminera eventuella interferenser och felkällor vilka vid LC-MS/MS även i normalfallet är små.

Mätområde

Metodens mätområde är 2-1000 nmol/L. Prover med koncentration över mätområdet späds och omanlyseras före rapportering, vilket innebär att högre koncentrationer än 1000 nmol/L kan svaras ut.

Mätosäkerhet

Nedan angiven mätosäkerhet är baserad på 2025 års statistik av interna kontroller.

Nivå pmol/L:	CV%:
8,3	6
512	4

Riktighet

Metodens riktighet följs kontinuerligt genom deltagande i externt kontrollprogram (UK NEQAS, Steroid hormones).

Spårbarhet

Kalibreringen är spårbar via analyscertifikat från leverantör av referenssubstans.

Validering

Validering av metoden [4] har utförts vid Klinisk Kemi Lund [5-7].

Referenslitteratur

1. Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin, 9:e upplagan Studentlitteratur 2012, 311-12.
2. 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.
3. Turpeinen U, Markkanen H, Välimäki M Stenman U-H. Determination of urinary free cortisol by HPLC. Clin Chem 1997; 43: 1386–91.
4. Metodbeskrivning: Mb - U-Kortisol på LC-MS/MS_C-10216. Dok ID 9647119.
5. Validering: Metodmodifiering för U-Kortisol_17-578. Dok ID 9648011
6. Validering: Byte av kolonn och mobilfaser för U-Kortisol_15-859. Dok ID 9671074
7. Verifiering: U-kortisol på 6500plus2_23-222. Dok ID 9646306