

**AZ ORVOSI LABORATÓRIUMI DIAGNOSZTIKAI VIZSGÁLATOK  
MINŐSÉGBIZTOSÍTÁSA: STANDARDIZÁCIÓ, HARMONIZÁCIÓ ÉS  
PLATFORMFÜGGETLEN KONTROLLOK**

Készítette:

Dr. Gyimesi Edit, klinikai biokémikus, tudományos főmunkatárs  
Budainé Dr. Tóth Judit, laboratóriumi szakorvos, egyetemi tanársegéd

Lektorálta:

Dr. Kappelmayer János, laboratóriumi szakorvos, intézetigazgató, egyetemi tanár  
Dr. Szakony Szilvia, laboratóriumi szakorvos, osztályvezető főorvos

## Tartalomjegyzék

1. Hatókör.....	4
2. Bevezetés.....	4
3. A tanulmány célja .....	6
4. Az orvosi laboratóriumok minőségbiztosítási követelményei .....	6
4.1. A kontrollok típusai .....	8
4.2. A kontrollálás szabályai .....	9
4.3. Standardizáció és harmonizáció .....	12
4.4. Felcserélhető (commutable) kalibrátorok.....	14
4.5. Referencia-tartományok .....	14
5. Standardizáció és harmonizáció a klinikai kémiában, az immunkémiában és az elválasztástechnikában .....	15
5.1. Az enzimérések standardizációja és harmonizációja .....	15
5.1.1. Elsődleges referencia-módszerek.....	16
5.1.2. Referencia-anyagok.....	17
5.1.3. Akkreditált referencia-laboratóriumok.....	17
5.1.4. Közös referencia-tartományok.....	17
5.2. A hemoglobin A1c (HbA1c) standardizációja és harmonizációja .....	18
5.3. Az immunoassayk standardizációja és harmonizációja .....	20
5.4. A tumormarkerek standardizációja és harmonizációja .....	22
5.5. A kardiális markerek standardizációja és harmonizációja .....	23
5.5.1. CK-MB, cTnI/T és mioglobin mérések standardizációja és harmonizációja .....	23
5.5.2. BNP és NT-pro-BNP standardizációja és harmonizációja.....	25
5.6. A gyógyszer szint-meghatározások standardizációja és harmonizációja .....	26
5.6.1. Az antiepileptikumok monitorozása.....	27
5.6.2. Az immunosuppresszánsok monitorozása.....	28
5.6.3. Az antibiotikumok monitorozása.....	28
5.6.4. A szívre ható gyógyszerek monitorozásaa .....	29
5.6.5. Az antidepresszánsok monitorozásaa .....	29
5.6.6. A daganatellenes szerek monitorozásaa .....	30
5.6.7. A bronchodilatátorok monitorozása.....	31
5.6.8. A fájdalomcsillapítók (analgetikumok) monitorozása.....	31

6. Standardizáció és harmonizáció a hemosztázisban .....	32
7. Standardizáció és harmonizáció a hematólogiában.....	34
8. Az autoantitest mérések standardizációja és harmonizációja .....	37
8.1. Hep-2 sejteken végzett immunfluoreszcenciás szűrővizsgálat az autoantitestek kimutatására.....	37
8.2. A funkcionális autoantitest meghatározás standardizálási problémájának bemutatása a TSH receptor elleni antitest meghatározásán keresztül.....	38
9. A laboratóriumok minőségcéljainak elérését támogató lehetőségek.....	39
9.1. A platformfüggetlen kontrollok jelentősége .....	39
9.2. A laboratóriumok közti adatkezelés .....	40
9.3. A BIO-RAD cég által nyújtott lehetőségek.....	40
9.3.1. Platformfüggetlen kontrollok.....	40
9.3.2. Unity TM QC DATA Management Solutions Program.....	42
9.3.3. Külső minőség-ellenőrző programok.....	44
10. Összefoglalás.....	51
11. Irodalom .....	52

## 1. Hatókör

A tanulmány a laboratóriumi mérő módszerek belső és külső minőség-ellenőrzésére vonatkozó általános laboratóriumi ismereteket és ajánlásokat tekinti át; a rutin klinikai kémiai és immunkémiai tesztek, kromatográfiás meghatározások, általánosan alkalmazott (mindennapi rutinban használt) hemosztázis és hematológiai vizsgálatok, továbbá az autoantitest-meghatározások harmonizációjáról és standardizációjáról ad átfogó képet, továbbá bemutatja a BIO-RAD által nyújtott lehetőségeket.

A tanulmány nem tér ki az alábbi témakörökre:

- mikrobiológia,
- transzfuziológia,
- nukleinsav alapú tesztek,
- speciális hemosztázis vizsgálatok,
- áramlási citometriai vizsgálatok.

## 2. Bevezetés

A laboratóriumi vizsgálatok eredménye nagy hatással van a klinikai döntéshozatalra: a legfontosabb klinikai döntések 60–70%-a laboratóriumi vizsgálatok eredményén alapszik (Plebani, 2006). A diagnosztikai munka három fő szakaszra bontható: preanalitikai, analitikai és posztanalitikai fázisra. A preanalitikai fázis a megfelelő vizsgálat kiválasztását, a vizsgálatkérést, a beteg azonosítását és előkészítését, a mintavételt, a mintaszállítást, a mintaátvételt és –azonosítást, a minta-előkészítést, a minta minőségének ellenőrzését és a minta tárolását foglalja magába, a mérés kezdetéig tart, laboratóriumon kívüli és belüli szakaszokból áll. A preanalitikai fázis laboratóriumon kívüli szakaszát pre-preanalitikai fázisnak is nevezik. Az analitikai fázis, a tulajdonképpeni mérés teljes egészében a laboratóriumra lokalizálódik. A posztanalitikai fázis az eredmény confirmálásával veszi kezdetét és a validáláson, a leletíráson, az esetleges szóbeli konzultáción és az eredmény értékelésén át a klinikai döntéshozatalig tart, a preanalitikai fázishoz hasonlóan részben a laboratóriumon kívül zajlik, ez a szakasza a poszt-posztanalitikai fázis. Ezen folyamatok bármely részében bekövetkezhet hiba a vizsgálat rendelésétől az eredmény kiadásáig, annak megfelelő értelmezéséig és az azt követő cselekvésig (Plebani, 2006; Lippi et al, 2006). Az utóbbi évtizedekben a laboratóriumi hibák száma jelentősen csökkent. Jelenleg a

laboratóriumi hibák legnagyobb része a preanalitikai fázisban következik be, különösen annak laboratóriumon kívüli szakaszában; míg az analitikai fázis a legkevésbé érintett: a laboratóriumi hibák 7-13%-a jelentkezik a labor diagnosztikai munka ezen szakaszában (Plebani, 2006; Green, 2013). Az analitikai hibák aránya az 50 évvel ezelőttihez képest töredékére csökkent, e jelentős javulásban az automatizáción, a standardizáción, a laboratóriumi informatikai rendszer használatán és a laboratóriumi személyzet oktatásán kívül kiemelkedő szerepe van az analitikai minőségi indikátorok bevezetésének és monitorozásának, amelyek az analitikai folyamatok belső és külső minőség-ellenőrzését szolgálják (Plebani, 2017; Plebani, 2018a). Néhány évvel ezelőtt elkezdődött a laboratóriumi medicina minőségi indikátorainak nemzetközi harmonizációja, amely a teljes tesztelési folyamat minden szakaszára kiterjedt (Plebani et al, 2014). A 2016-ban Padovában megrendezett konszenzus konferencián 11 preanalitikai, 5 analitikai és 4 posztanalitikai fázisra vonatkozó minőségi indikátor monitorozását határozták meg kötelező jelleggel (Sciacovelli et al, 2017).

a. Preanalitikai fázis:

- Téves azonosításból származó hibák aránya (kérés, minta)
- Nem megfelelő vizsgálatkérések aránya (klinikai kérdés nélkül vagy nem megfelelő klinikai kérdéssel – járóbetegeknél, nem megfelelő klinikai kérdéssel – fekvőbetegeknél)
- Hibás adatbevitelből származó hibák aránya (laboros vagy külső személy hibája)
- Értelmetlen kérések aránya (külső, belső)
- Nem megfelelő típusú minták aránya (nem megfelelő minta mátrix pl. teljes vér plazma helyett, nem megfelelő tárolóba gyűjtött minta)
- Nem megfelelő mennyiségű minták aránya (nem elegendő mintatérfogat, nem megfelelő minta/antikoaguláns arány)
- Nem megfelelően szállított vagy tárolt minták aránya (analízisig nem megfelelően tárolt minta, szállításkor károsodott minta, nem megfelelő hőmérsékleten szállított minta)
- Szennyezett minták aránya
- Hemolizált minták aránya
- Alvadékos minták aránya
- Nem megfelelő időben levett minták aránya

b. Analitikai fázis:

- azon vizsgálatok aránya, amelyek esetén nem történik belső minőség-ellenőrzés
- a belső minőség-ellenőrzés azon eredményeinek aránya, amelyek nem felelnek meg az elfogadhatósági kritériumoknak
- azon vizsgálatok aránya, amelyek nem vesznek részt külső minőség-ellenőrző programban
- a külső minőség-ellenőrzés azon eredményeinek aránya, amelyek nem felelnek meg az elfogadhatósági kritériumoknak
- adatátírási hibák, vagyis azon nem megfelelő eredmények aránya, amely hibás manuális átírás vagy az informatikai rendszer problémájának következményei.

c. Posztanalitikai fázis:

- Nem megfelelő leletelkészítési idővel rendelkező minták aránya
- Inkorrekt laboratóriumi leletek aránya
- Kritikus eredményről nem időben történő értesítések aránya
- Azon interpretatív leletek aránya, amelyek pozitív hatással vannak a beteggyógyulásra

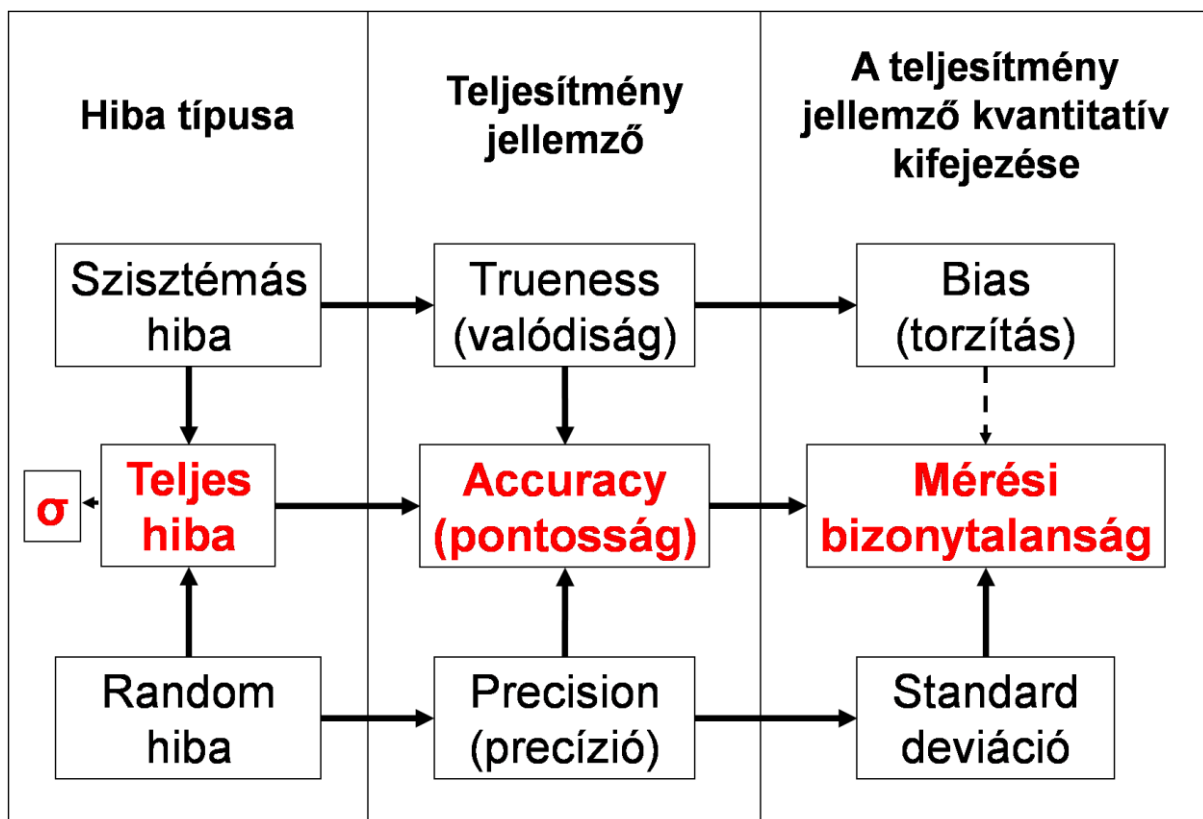
### **3. A tanulmány célja**

A tanulmány célja az orvosi laboratóriumok minőségbiztosítási követelményeinek bemutatása, a standardizációs és harmonizációs törekvések interpretálása az egyes részterületeken, továbbá a BIO-RAD kontrollok és a "BIO-RAD Unity Program" szoftver által az orvosi laboratóriumok számára nyújtott lehetőségek vizsgálata a minőségbiztosítási kritériumok alapján.

### **4. Az orvosi laboratóriumok minőségbiztosítási követelményei**

A minőség-ellenőrzés azoknak a tevékenységeknek és működési eljárásoknak az összessége, amelyeket a minőségi követelmények teljesítése céljából alkalmaznak. A minőségbiztosítás olyan tervezett és rendszeres tevékenység, ami hiteles bizonyosságot szolgáltat a minőségi követelmények elérésére, azaz biztosítja, hogy a laboratóriumi szolgáltatás teljesíti a megadott minőségügyi követelményeket, elvárásokat. Az orvosi laboratóriumok esetében az ISO 15189:2012 szabvány fogalmazza meg a minőségre és

felkészültségre vonatkozó követelményeket (ISO 15189, 2012). Eszerint minden laboratóriumnak rendelkeznie kell egy, az analitikai folyamatokra vonatkozó minőség-ellenőrzési eljárással, amely biztosítja a mérési eredmények megfelelőségét. A mérési eredményt mind a biológiai, mind az analitikai variabilitás befolyásolja, a minta valódi értékén kívül függ a random és szisztémás hiba mértékétől is. A random hiba a mérési körülmények elkerülhetetlen ingadozásából származik, a precíziót jellemzi, mértéke a standard deviáció (1. ábra). A szisztémás hiba az analit koncentrációjától független (konstans) vagy attól függő (arányos/proporcionális), befolyásolható/elkerülhető hiba, amely a valódiságot jellemzi, mértéke a torzítás (bias). A random és szisztémás hiba együttesen határozza meg a teljes analitikai hibát, az ISO 15189:2012 szabvány által megkövetelt mérési bizonytalanság (measurement uncertainty, MU) csak szisztémás hiba hiányában jellemzi megfelelően a mérés pontosságát (Westgard et al, 2017). Az alkalmazott mérőmódszerek belső és külső minőség-ellenőrzésére kontrollokat használunk, amelyek a precízió és a valódiság ellenőrzésére egyaránt alkalmasak.



1. ábra. A mérési hibák típusai

A random hiba a precíziót jellemzi, mértékét a standard deviáció adja meg; míg a szisztémás hiba a valódiságot jellemzi, mértéke a torzítás. A random és szisztémás hiba együtt határozza meg a teljes analitikai hibát, amely a

pontosságot jellemzi, mértéke a mérési bizonytalanság. (Az ábra Menditto et al, 2006 ábrája alapján, annak módosításával készült.)

#### **4.1. A kontrollok típusai**

##### Belső kontrollok

Az ISO 15189 szabvány gyártói és független kontrollokat különböztet meg.

I. Gyártói kontrollok: a készülék, reagens, kalibrátor gyártója által előállított kontroll minták

- A készülékbe beépített vagy rendszer-ellenőrző kontrollok („on board” or Analyser QC)

II. Független kontrollok: a készülék, reagens, kalibrátor gyártójától függetlenül előállított kontroll minták

- A laboratórium által használt helyettesítő minta kontrollok

- Referencia-anyagok: pozitív, negatív, illetve cut-off kontrollok

##### Külső minőség-ellenőrző programok

###### I. Hazai programok:

A QualiCont közhasznú szervezet (Szeged, Magyarország) 1996-ban alakult 5 hazai tudományos társaság kezdeményezésére (Magyar Laboratóriumi Diagnosztikai Társaság, Magyar Mikrobiológiai Társaság, Magyar Patológusok Társasága, Magyar Immunológiai Társaság, Magyar Hematológiai és Transzfúziológiai Társaság).

Ez egy Nemzeti Akkreditálási Hivatal (NAH) által MSZ EN ISO/IEC 17043:2010 szabvány szerint akkreditált jártassági vizsgálatokat szervező társaság ([www.qualicont.com](http://www.qualicont.com)), melynek célja az egészségügyi diagnosztikai tevékenység megbízhatóbbá tétele.

Programjai: preanalitika, általános kémia, hematológia, POCT vizsgálatok, molekuláris biológia, patológia, autoimmun szerológia (NEQAS közvetítő/distributor), allergia, klinikai mikrobiológia (INSTAND közvetítő/distributor).

###### II. A legnagyobb nemzetközi QC programok (EQAS/External Quality Assurance Services):

- RIQAS ([www.riqasnet.randox.com](http://www.riqasnet.randox.com)): a világ legnagyobb külső minőségbiztosítási szervezete: 133 ország, ISO/IEC 17043:2010 akkreditált, 45 000 résztvevő, 32 átfogó program



- UK NEQAS (United Kingdom National Quality Assessment Schemes, [www.neqas.org](http://www.neqas.org)): ISO 17043 akkreditált, >10 átfogó program, 355 résztvevő
- BIO-RAD EQAS ([www.bio-rad.com/en-hu/category/external-quality-assurance-services](http://www.bio-rad.com/en-hu/category/external-quality-assurance-services)): ISO/IEC 17043:2010 akkreditált, >10 ország, >18 000 résztvevő
- ECAT ([www.ecat.nl](http://www.ecat.nl); Leiden, Hollandia): ISO/IEC 17043:2010 akkreditált, hemosztázis és trombólízis programok, 815 résztvevő
- Labquality ([www.labquality.fi](http://www.labquality.fi)): ISO 17043:2010 akkreditált, >10 átfogó program, 4400 résztvevő
- INSTAND ([www.instand-ev.de](http://www.instand-ev.de); Düsseldorf, Németország): DIN EN ISO/IEC 17043:2010 akkreditált, 16 átfogó program, >300 résztvevő,
- DEQAS ([www.deqas.org](http://www.deqas.org)): ISO 9001:2000 és ISO 13485:2003 akkreditált, D vitamin, >1000 résztvevő
- EMQN (European Molecular Genetics Quality Network, [www.emqn.org](http://www.emqn.org)): ISO 17043 akkreditált, molekuláris biológia programok, 76 ország, 1407 résztvevő

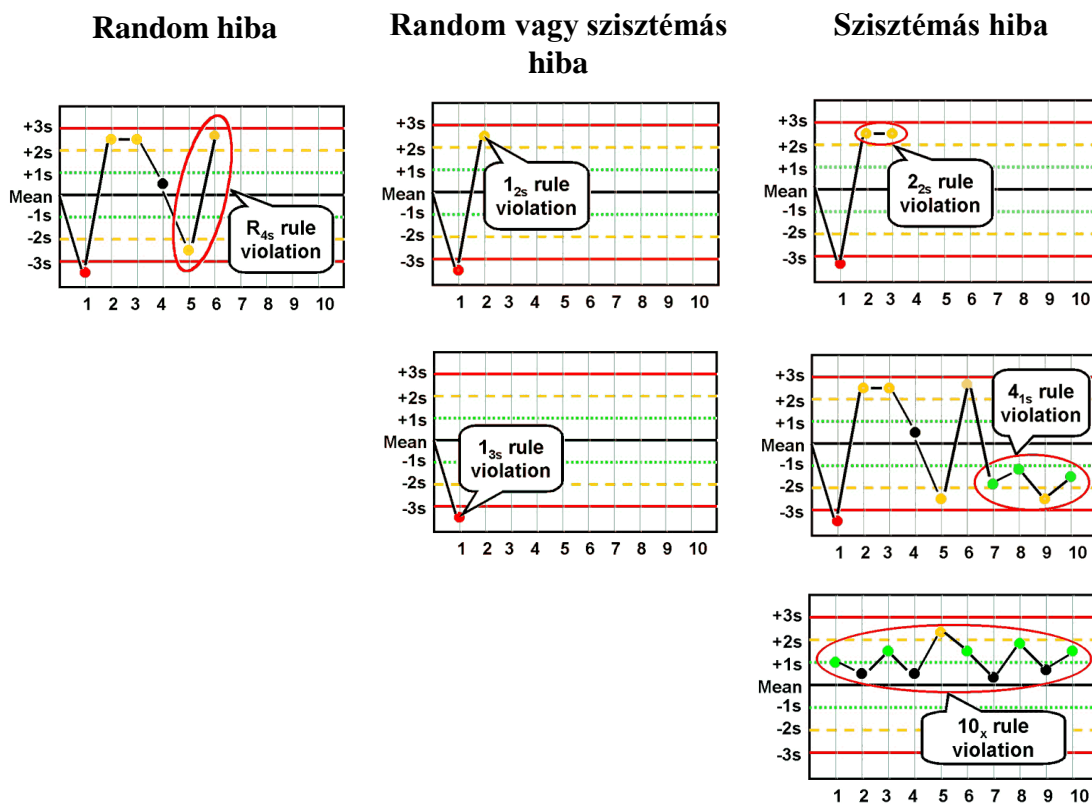
Egyéb kontrolllok: a gyártó által tervezett kontroll-folyamatok vagy a laboratórium által végzett olyan folyamat, amely biztosítja az eredmény megbízhatóságát.

#### **4.2. A kontrollálás szabályai**

Az ISO 15189:2012 szabvány szerint a belső minőségi kontrollokkal történő ellenőrzésnek rendszeresnek kell lennie, a mérések gyakoriságának a kontrollálandó módszer stabilitásától és a hibás eredménynek a megbízhatóságra gyakorolt hatásától kell függenie. A kétszintű kontrolllok használata kötelező, de független, háromszintű kontrolllok mérése megfontolandó akár a reagens- vagy készülékgyártók által javasolt kontrolllok helyett, akár azok alkalmazása mellett. A kontrollminta mérésekor a betegmintának is jelen kell lennie és a rutinszerűen vizsgálatot végzőnek kell a mérést kiviteleznie. A kontrollanyagok mért komponenseinek koncentrációja lehetőleg a klinikai döntéshozatal szempontjából fontos értékhatárokon vagy azok közelében legyen. A kontrollálás gyakoriságát a vizsgálat minősége (Sigma értéke: „ $\sigma$ ”) és a napi vizsgálatok szám befolyásolja.

A laboratóriumoknak az analitikai folyamatok minőségének ellenőrzéséhez dokumentálniuk kell a kontrollméréseket és ezek megfelelőségének vizsgálatát. Ehhez a QC eredményeket a hozzájuk tartozó paraméterekkel (teszt, módszer, egység, műszer, dátum, kivitelező személy) naplószerűen szükséges vezetni. Az egymást követő mérések vagy az

egymást követő napok kontrollméréseinek eredményeit Levey-Jennings diagramokon szokták ábrázolni az SD (standard deviation) értékek felhasználásával. Ezt minden teszt minden szintű kontrolljára el kell készíteni. Az analitikai folyamatok minőség-ellenőrzéséhez az ún. Westgard szabályok alkalmazhatók (Westgard et al, 1981). Meg kell határozni azokat a határértékeket, melyek figyelmeztető jellegűek és az azonnali változtatást/ellenőrzést igénylő határértékeket. Ezeket az alkalmazott gyári (vagy módszertől függően saját) kontroll átlag  $\pm 1SD$ ;  $\pm 2SD$ , vagy  $\pm 3SD$  kiválasztásával állapítanak meg. A grafikus ábrázolás segítséget nyújt a szisztémás és random hibák feltáráshoz (2. ábra).

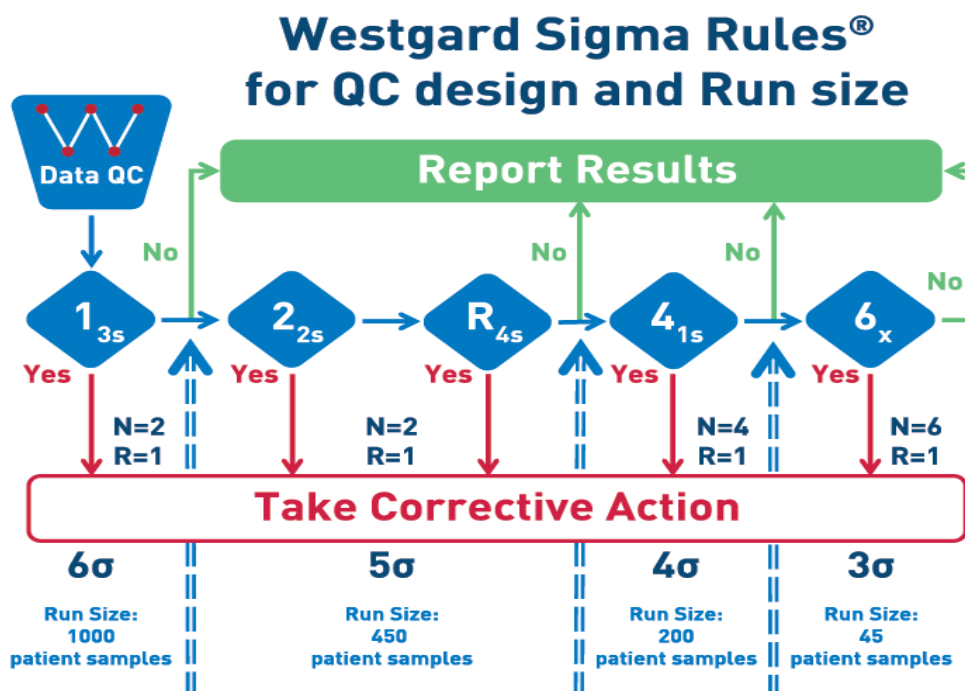


**2. ábra. A random és/vagy szisztémás hibák feltárást biztosító Westgard szabályok alkalmazása Levey-Jennings diagramok esetén**

Az  $R_{4s}$  szabály azt jelenti, hogy egy kontroll értéke meghaladja az átlag+2SD-t és a következő kontroll értéke az átlag-2SD alatt van, vagy fordítva, ez az eltérés random hibára utal. Az  $1_{2s}$  szabály szerint, ha egy kontroll értéke az átlag $\pm 2SD$ -n kívül esik, akkor szisztémás vagy random hiba lehet a rendszerben. Az  $1_{3s}$  szabály szerint, ha egy kontroll értéke kívül esik az átlag $\pm 3SD$ -n, az random hibát jelez vagy egy jelentős szisztémás hiba kezdetét. A  $2_{2s}$ ,  $4_{1s}$  és  $10_x$  szabályoknak megfelelő eltérések szisztémás hibára utalnak. A  $2_{2s}$  szabály azt jelenti, hogy két egymás utáni kontroll értéke az átlag+2SD-n vagy az átlag-2SD-n kívül van; a  $4_{1s}$  szabály szerint négy egymás utáni kontroll értéke meghaladja az átlag+1SD-t vagy alatta van az átlag-1SD értéknek; míg a  $10_x$  szabály jelentése az, hogy tíz egymás utáni kontroll értéke az átlag alatt vagy felett van. (forrás: www.westgard.com)

Egy mérési folyamaton belül két kontroll eredménye minden egyes anyagra az  $1_{3s}$  szabály alkalmazásával vizsgálható ("within run"), az  $R_{4s}$  szabály ugyancsak a „within run” futtatásokra alkalmazható. A  $2_{2s}$  szabály az utolsó két mérésre használható az anyagon belüli és futások közötti ("within material and across runs") megfelelőség megítélésére. A  $4_{1s}$  szabály ugyancsak alkalmazható a két kontroll méréseknél a jelenlegi és előző futás összehasonlítására, de az utolsó négy mérésre is alkalmazható, ha rendelkezésre állnak a korábbi mérés kontrolljai (az anyagok közti és futások közti megfelelőség: "across materials and across runs"). A  $10_x$  szabály alkalmazható mindkét kontroll mérésre az utolsó öt futtatásra vagy csak az egyik anyagra az utolsó 10 futtatás esetén.

Minden teszthez egyedileg kell kiválasztani a szabályokat, minden szabály egy megfelelő nagyságú hibát képes kimutatni. Az  $1_{2s}$  szabály teljesülése csak egy figyelmeztetés, amely arra utal, hogy szisztémás vagy random hiba lehet a rendszerben; a többi Westgard szabály bármelyikének teljesülése esetén azonban a mérés nem elfogadható (3. ábra).



WESTGARD<sup>QC</sup>

$$\text{Sigma Scale} = (\%TEa - \%Bias) / \%CV$$

Ref. Clin Chem 2018; 64:289

### 3. ábra. A Westgard szabályok alkalmazása

Az  $1_{2s}$  szabály teljesülése csak egy figyelmeztetés, amely arra utal, hogy szisztémás vagy random hiba lehet a rendszerben; ez esetben a további Westgard szabályok vizsgálata szükséges, amelyek közül bármelyik fennállása esetén a mérés nem elfogadható (forrás: www.westgard.com).

Az ISO 15189:2012 szabványnak megfelelően a laboratóriumoknak (hazai vagy nemzetközi) külső minőség-ellenőrző programokban kell részt venniük a mérő módszereik ellenőrzése céljából. Amennyiben valamely mérő módszer esetén nem áll rendelkezésre laboratóriumok közötti összehasonlítási lehetőség, a laboratóriumnak egyéb módon kell meggyőződnie a mérési eredmények megfelelőségéről, ennek egyik lehetősége a laboratóriumok összehasonlítására alkalmas kontrollminták mérése. Az egészségügyi miniszter 13/2010 (III.31.) EüM rendelete - amely az egészségügyi szolgáltatások nyújtásához szükséges szakmai minimumfeltételekről szóló 60/2003 (X.20.) ESzCsM rendelet és az egészségügyi szolgáltatások nyújtásához szükséges szakmai minimumfeltételekről szóló 60/2003 (X.20.) ESzCsM rendelet módosításáról szóló 48/2009 (XII.29.) EüM rendelet módosítását tartalmazza - fogalmazza meg az orvosi laboratóriumok feladatait, az engedélyezést és a kompetenciákat, továbbá a szakterületi kompetencia szerinti laboratóriumi tevékenység végzéséhez szükséges minimumfeltételeket. A rendelet az orvosi laboratóriumi diagnosztika különböző szintjein a laboratórium által végzett és hazai vagy nemzetközi külső minőség-ellenőrzési rendszerben elérhető valamennyi beavatkozás esetén, minimum évente 4x, ahol ez a minőségügyi szolgáltató szolgáltatási sajátosságai miatt nem elérhető, minimum évente 2x, részvételt és megfelelést ír elő (13/2010 (III.31.) EüM rendelet).

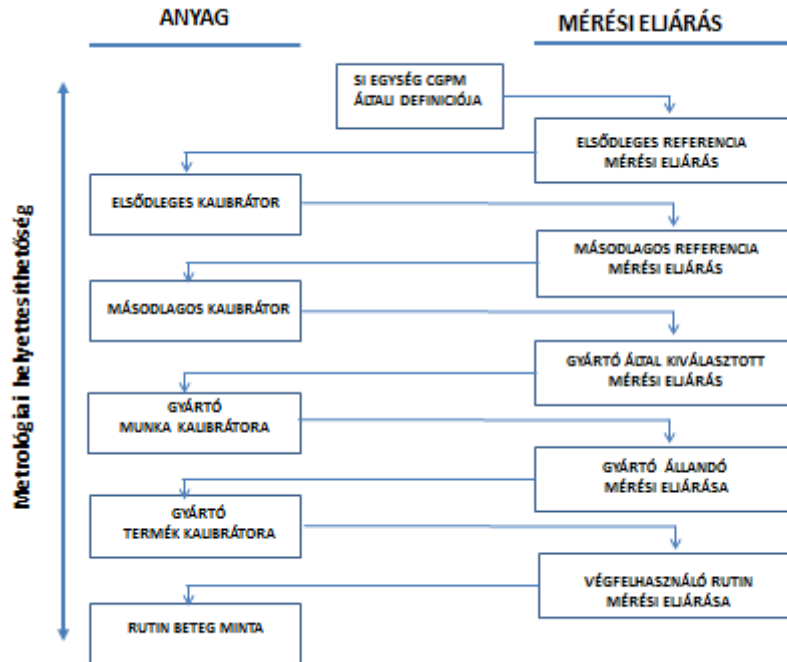
#### ***4.3. Standardizáció és harmonizáció***

A hatékony betegellátás és a betegbiztonság szükségessé teszi a laboratóriumi információk összehasonlíthatóságát, hogy azok függetlenek legyenek a helytől, az időtől és a mérési eljárástól (Plebani, 2018b).

Az összehasonlíthatóság (comparability) a metrológiai helyettesíthetőséggel (traceability) érhető el, ami azt jelenti, hogy a mérési eljárások ugyanazt a mennyiséget mérik és a mérési eljárások kalibrációja helyettesíthető egy általános referencia-rendszerrel, ami egy referencia-anyagból és a referencia-módszerből áll (4. ábra; Vesper et al, 2016).

A standardizációt biztosíthatja az SI egység (International Standardization of Units) a következő két feltétel teljesülése esetén: a mérendő anyag egyértelműen definiálva van és a teszteredmények egyezőségét egy magasabb rendű referencia mérési eljárás megállapításával érik el; vagy egy tiszta referencia anyaggal, amelyet az SI használatával lehet definiálni. Sajnos a mérendő anyagoknak csak egy része standardizálható ily módon, és ezek többsége is klinikai kémiai teszt. Az eredmények összehasonlíthatósága a standardizáción kívül

harmonizációval is elérhető, amely a referencia-rendszerhez való helyettesíthetőséget biztosítja megegyezéssel (convention) (Vesper et al, 2016).



#### 4. ábra. A metrológiai/helyettesíthetőségi (traceability) lánc diagramja

A betegminta eredményét SI egységben kifejezve kalibrációs mérések sorozatával és a kalibrátor anyag értékeinek hozzárendelésével kaphatjuk meg. A kalibrátor olyan humán mintára emlékeztető mátrixban van feloldva, mint a mérendő minta. CGPM – Conférence Générale des Poids et Mesures, SI – System International (International System of Units) (forrás: Vesper et al, 2016)

Ahhoz, hogy a különböző módszerekkel kapott eredmények összehasonlíthatók legyenek, szükséges, hogy számos különböző csoport, beleértve a laboratóriumi szakembereket, a vizsgálati eredmények klinikai felhasználóit és a diagnosztikai gyártókat, konstruktív kollaborációban működjön (Sturgeon, 2016). A fő segítséget az IFCC tudományos divíziója (Scientific Division of the International Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) adja, ezen munkacsoportok és tanácsok munkáját pedig a Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM) és a Harmonization Oversight Group aktívan koordinálja az American Association for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine felügyelete alatt (Sturgeon, 2016, Vesper, 2016).

#### **4.4. Felcserélhető (commutable) kalibrátorok**

Különböző mérési eljárásokkal vizsgálva a klinikai mintákat, a klinikai döntéshozatal által megengedett bizonytalanságon belüli megegyező eredmények eléréséhez egy magasabb rendű referencia-anyag biztosítására van szükség (Miller, 2018, Nilsson et al, 2018). Ezt a referencia-anyagot lehet kalibrátorként használni a kalibrációs nyomonkövethetőségi (traceability) séma kialakításakor. Az ISO 17511:2003 leírja a kalibrációs hierarchia kialakítását, melyhez a referencia-anyag kalibrátorként való használatára a helyettesíthetőség (commutability) vizsgálathoz az IFCC munkacsoport tesz ajánlást (Budd et al, 2018). Fontos, hogy a referencia-anyag gyártói szorosan együttműködjenek az IVD gyártókkal, hogy biztosítsák azt, hogy a referencia-anyagok általánosan használhatók legyenek.

A kalibrációs modelleknél a mérési folyamat szignáljának a mérendő anyag mennyiségévé történő átalakításakor a szisztémás hibáknak három forrása van: a kalibrációs illesztés, a kalibrációs szint valódisága és a helyettesíthetőség (Budd et al, 2018). A referencia-anyag segítségével újrakalibrálható minden egyes mérési folyamat. Célja, hogy csökkentse a szisztémás hibát a mérési folyamatok között az ekvivalencia elfogadható szintjén belül, ami az orvosi elváráson alapszik és megerősíti ezen mérési folyamatok felcserélhetőségét. Amennyiben az újrakalibrálás után egy klinikai minta eredménye nem egyezik a más módszerrel kapott eredménnyel, a referencia-anyag nem kommutábilis/felcserélhető. Megegyezés hiányában más potenciális okokat pl. kalibrációs illesztést is meg kell vizsgálni, mielőtt egy referencia-anyagot nem felcserélhetőnek minősítenének.

#### **4.5. Referencia-tartományok**

Általános referencia-tartományok kialakításához olyan nagy multicentrikus tanulmányokra van szükség, amelyekben jól definiált előírásokat (prerekvizitumokat) tartalmazó protokollokat alkalmaznak (nyomonkövethetőség az elsődleges referencia-folyamatokkal és/vagy -anyagokkal, amelyet a gyártók biztosítanak és a résztvevők szigorúan betartják a gyártó utasításait). A maximálisan megengedhető laboratóriumok közti variabilitást előzetesen definiálni és verifikálni kell előkísérletekben és egy „ad hoc” minőségi programmal ellenőrizni kell az analitikai minőséget. A referencia-tartományok gyakorlati alkalmazásához és az alkalmazandó formulákhoz az IFCC a RefVal programban tett ajánlást 2004-ben (Solberg, 2004).

Az általánosan használt referencia-tartományok lehetővé teszik annak eldöntését, hogy a laboratóriumi érték a normál tartományba esik-e, vagy a patológiás állapotot tükrözi. A betegség kezdeti fázisában azonban nehéz döntést hozni, különösen, ha a mért érték relatíve közel esik a normál tartományhoz (Walz, 2015). A mért analitérték hitelességének és szignifikáns változásának megállapításához két változó figyelembevétele szükséges:

1. a mérési pontatlanság (imprecision), melynek értéke napjainkban alacsony: 1-5%;
2. az egyénen belüli biológiai variabilitás, ami 100% vagy több is lehet.

Ennek a két értéknek a kombinációja eredményezi a „Reference Change Value”/RCV-t, ami megadja a két mérés különböző időpontok közti szignifikáns különbséget. Az RCV használatával a két mért érték közti különbség már akkor is meghatározható, mielőtt az eredmény meghaladná a normál tartományt. Fontos tudni, hogy a beteg eredménye meghaladja-e a saját normál tartományát, ami az RCV értéktől függ. A klinikai kémiában és hematológiában számos analitra az RCV érték alkalmazása megfelelőbb, mint a normál tartomány használata.

$RCV = 2^{1/2} \cdot Z \cdot (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$ , ahol a

$2^{1/2}$  – kétirányú változás valószínűsége

Z – a kétirányú változásban a statisztikai szignifikancia szintjének megfelelő standard deviáció (1,96= 95% és 2,58=99%)

$CV_A$  – analitikai pontatlanság

$CV_I$  – biológiai variancia

(Nunes et al, 2010)

## **5. Standardizáció és harmonizáció a klinikai kémiában, az immunkémiában és az elválasztástechnikában**

### ***5.1. Az enzimmérések standardizációja és harmonizációja***

Az IFCC referencia mérési eljárásokat hozott létre a leggyakrabban mért enzimekre (Reference Measurement Procedures/RMPs). Az RMP-k definiálják azokat a mérési körülményeket, amelyek között egy adott enzimaktivitás mérése történik, így a nyomkövethetőségi lánc legfelső szintjén található (Panteghini et al, 2001). A gyártóknak a kereskedelmi kalibrátorokhoz olyan értékeket kellene megadniuk, hogy az RMP-knek megfelelően helyettesíthetők legyenek, ezáltal a klinikai mintákban a reagens kitéktől,

készülékektől és laboratóriumtól független eredményt adjanak. Sajnos a helyzet egyelőre még nem elfogadható, mert a gyártók nem mindig állítanak elő olyan kiteket, amelyek eredményei jól nyomon követhetők a nemzetközileg elfogadott RMP-knek megfelelően (Infusino et al, 2016).

Számos betegség diagnózisának felállításához és monitorozásához enzimatis méréseket alkalmaznak. Az enzimaktivitás meghatározásának standardizálása szükséges ahhoz, hogy humán mintákban összehasonlítható eredményeket kapjanak, amelyek függetlenek a reagens kitektől, készülékektől és a mérést végző laboratóriumoktól. Az enzimméréseket nem elegendő az enzim nevével, mennyiségével és a rendszerrel jellemezni, szükséges a mérési folyamat, a mérési reakció indikátor komponensének megadása is (ISO18153, 2003).

Az IFCC munkacsoportja, amely tanácsá alakult 1997-ben, a legtöbb enzimre referencia-rendszereket állapított meg, melyek a következőkön alapulnak:

- referencia-módszer
- megfelelő referencia-anyag
- nagymértékben kontrollált módon működő referencia-laboratórium

#### 5.1.1. Elsődleges referencia-módszerek

A mérési feltételeket részletesen rögzíteni kell standard operatív eljárásokban (Standard Operating Procedure/SOP). Az enzimek katalitikus aktivitásának megállapításához a reakció-hőmérsékletet 30 °C-ról 37 °C-ra változtatták, újraértékelve az inkubációs időket és linearitást. A mérési bizonytalanság minimalizálása céljából minden metrológiai körülményt (gravimetria, térfogat, pH, reakció-hőmérséklet és fotometria) meg kell határozni, az analitikai folyamat minden lépésében ismerni és kontrollálni kell a mérési bizonytalanság minden komponensét.

Jelenleg a következő enzimekre javasolt referencia-módszert az IFCC:

kreatin-kináz/CK (Schumann G et al, 2002a), laktát-dehidrogenáz/LDH (Schumann G et al, 2002b), alanin-aminotranszferáz/ALT (Schumann G et al, 2002c), aszpartát-aminotranszferáz/AST (Schumann G et al, 2002d),  $\gamma$ -glutamil-transzferáz/  $\gamma$ -GT (Schumann G et al, 2002e), és  $\alpha$ -amiláz/AMY (Schumann G et al, 2006), alkalikus foszfatáz/ALP (Schumann G et al, 2011) és dolgoznak a lipáz/ referencia-módszerén.



### 5.1.2. Referencia-anyagok

Az eredmények megegyezőségének növelése megfelelő referencia-anyagok használatával érhető el a megbízhatóság átviteléért egy alacsonyabb hierarchia szintre. Az IFCC és az IRMM (Institute for Reference Materials and Measurement) együttműködve referencia-anyagokat hitelesített a GGT, LDH, ALT, CK, AMY (Siekman, 2002) és AST (Touissant, 2009) enzimekre. Ezek segítségével az anyagok helyettesíthetősége elérhető azáltal, hogy ezek felhasználásával kalibrálhatók a kereskedelmi rendszerek, ami kulcskérdése a rutin enzimkészítményeknek. Ezeknek az anyagoknak a kommutabilitását csak korlátozott számú módszerre mutatták ki, további vizsgálatok szükségesek az összehasonlíthatóságra egyéb rendszerekben pl. szárazkémiai eljárások esetén (Cattozzo,(LDH) 2008, Rami, (ALP) 2012, Carobene (GGT), 2013). Ezek az anyagok csak korlátozott mennyiségben állnak rendelkezésre, relatíve drágák, és így rutin célokra nem használatosak. Szükség lenne olyan multienzim anyagokra, amelyek hasonlóan működnek a biológiai mintákhoz és helyettesíthetnék ezeket a referencia-anyagokat (Infusino, 2010). Legújabbban az IFCC a klinikai enzimérések standardizációját fagyasztott humán poolozott szérumba megállapított értékekkel valósította meg (Tong, 2018).

### 5.1.3. Akkreditált referencia-laboratóriumok

Az IFCC felügyelete alatt világszerte kiválasztott laboratóriumok működnek, amelyek a megállapított SOP-k alapján megfelelő szakértelemmel és felszereltséggel hajtják végre méréseket. Ezek a laboratóriumok képesek referencia-mérés szervízt biztosítani az érdeklődő felhasználóknak, meghatározott analitikai követelményeknek megfelelő referencia-eljárásokkal. Az egyes laboratóriumok listája megtalálható a JCTLM (Joint Committee for Laboratory Medicine) adatbázisában. Ezek a laboratóriumok alapját képezik azon csoportoknak, amelyek részt vesznek az új lehetséges referencia-eljárások megvalósíthatóságának és transzferabilitásának vizsgálatában.

### 5.1.4. Közös referencia-tartományok

A közös referencia-tartományok szükségességét az alábbiak támasztják alá:

- a standardizálások végrehajtása módosíthatja az enzimaktivitás eredményeket;

- adekvát referencia-tartományok nélkül az eredmények interpretációja károsodhat, ronthatja a betegellátás kimenetelét;
- megbízható referencia-tartományok hiányában az újonnan standardizált kereskedelmi módszerek akadályozhatják az elfogadásukat;
- egy egyedi klinikai laboratórium vagy gyártó nem biztos, hogy adekvát módon képes referencia-tartományoltétrehozni (Infusino et al, 2016).

Az RMS/Reference Measurement System esetén a különböző kereskedelmi módszerek nyomon követhető eredményeket adnak, amely a klinikai laboratóriumokban összehasonlítható eredményekhez vezetnek. Azon referencia-tartományokat, amelyeket olyan analitikai eljárásokkal nyertek, amelyek a megfelelő RMS-ben nyomon követhetők, transzferálni lehet a laboratóriumok között, feltéve, ha az adott laboratóriumok olyan kereskedelmi forgalomban levő módszert használnak, amelyek nyomon követhetők ugyanabban a referencia-rendszerben, és az általuk vizsgált populációknak ugyanazok a jellemzőik, vagy az adott enzimet nem befolyásolja az etnikum vagy valamely környezeti faktor (Ceriotti et al, 2006). Nyomon követhető referencia-tartományokat az AST, ALT,  $\gamma$ GT, LDH, CK, ALP és AMY enzimekre állapítottak meg (Infusino et al, 2016).

A gyártók feladata a referencia-tartományok minél korrektebb implementációja, a laboratóriumok felelőssége pedig a kereskedelmi forgalomban levő enzim-módszerek pontosságának és összehasonlíthatóságának verifikálása. Fontos szerepe van a külső minőségbiztosítási programok (EQAS/External Quality Control Schemes) szervezőinek abban, hogy olyan felcserélhető anyagokat alkalmazzanak vizsgálati mintaként, amelyek az IFCC referencia-eljárásokkal kapott értékekkel rendelkeznek. Ez lehetővé teszi a körvizsgálati programban résztvevő laboratóriumok enzim-mérés eredményeinek valódi értékeken alapuló objektív értékelését a konszenzus értékeken alapuló értékelés helyett (Infusino, 2016).

## **5.2. A hemoglobin A1c (HbA1c) standardizációja és harmonizációja**

A glikált hemoglobinok a glükóznak a hemoglobin molekula  $\beta$ -láncának N-terminális régiójához történő kapcsolódása során jönnek létre, ez a glükóz koncentrációjától függő folyamat. A glikált hemoglobinok kb. 60 %-át alkotó HbA1c koncentrációja az utolsó 2-3 hónap vércukorszintjét tükrözi, ezért gold standard módszer a szénhidrát-háztartás hosszútávú követésére (Hanas et al, 2014). A HbA1c mérésére egyrészt elválasztástechnikai módszereket (kapilláris elektroforézis, ioncserés és affinitás-kromatográfia), másrészt kémiai automatákon

alkalmazott módszereket (immunoassay, enzimatikus módszerek) használnak (Vásárhelyi, 2016).

A HbA1c mérést befolyásoló tényezők:

1. A hemoglobin koncentrációja és féléletideje

A vörösvértestek rövid életideje (hemolitikus anémia) csökkenti a HbA1c eredményeket. A HbA1c mérés interferál a hemolízissel és számos hemoglobin variáns jelenlétével. Egyes hemoglobinformák (HbF, HbS, HbC, HbD, HbE stb.) módszertől függően hibás eredményt okozhatnak.

2. Egyéb interferenciát okozó tényezők: hiperbilirubinémia, a hipertrigliceridémia, leukocitózis. Befolyásolják az eredményeket bizonyos fiziológiás és patológiás jellemzők (életkor, rassz, gesztációs állapot, preszimptomatikus I-es típusú diabétesz, vashiány, vérzés, transfúzió, malária, veseelégtelenség, splenectomia, alkoholizmus és bizonyos drogok fogyasztása. Emelkedett HbA1c eredményt normál glükózsint mellett is eredményezhet a vashiányos anémia. Különösen nehéz feltárni ezeket a hibákat immunoassay-k esetén, míg a kromatográfias módszereknél ezek láthatóvá tehetők, ezért ez utóbbiakat összehasonlító módszerként szokták használni.

A különböző módszerek eltérő eredményeinek kiküszöbölésére az IFCC 1996-ban referencia-rendszert dolgozott ki. 1998-ban HbA1c és HbA0 elsődleges és másodlagos standardokat reprezentáló referencia-preparátumot, 2002-ben pedig referencia-módszert hoztak létre. A módszer a minta elsődleges affinitás-kromatográfias frakcionálásával kezdődik, amelyet HPLC/elektrospray tömegspektrometria vagy HPLC/kapilláris elektroforézis követ. A referencia-mérésben az utolsó lépés az N1-deoxifruktozil-hemoglobin meghatározás (Penttilä, 2016). Az IFCC 2004-ben tett javaslatára minden gyártó, aki a HbA1c méréshez gyárt készülékeket a klinikai laboratóriumok számára, világszerte bevezette az elsődleges és másodlagos standardokat, referencia-módszert, neveket és egységeket tartalmazó irányelveket. Az IFCC javaslatára százalékos arány helyett SI egységben (mmol/mol) kell a HbA1c eredményeket megadni. A különböző laboratóriumokban az eltérő módszerekkel kapott nagy CV%-ot adó eredmények javítására Weykamp és munkatársai egy ismert koncentrációjú extra minta beillesztését alkalmazva jelentősen csökkentették a HbA1c eredmények CV% értékét (Weykamp et al, 1994). Az Európai HbA1c program (EurA1c/European HbA1c Trial) az „IFCC Committee on Education and Use of Biomarkers in Diabetes” szervezésével 2018-ban széleskörű felmérést végzett a HbA1c mérések teljesítményének megítélésére. Ebben a vizsgálatban 17 külső minőségbiztosítást végző

szervezet vett részt 2166 laboratórium és 24 gyártó bevonásával. Az eredményeket az IFCC minőségi target modelljének kritériumai alapján értékelték országonként, gyártókként és az országokat és gyártókat kombinálva. Az eredmények szerint 20 laboratóriumonként egy nem felelt meg az IFCC kritériumoknak, és jelentős különbség volt az egyes országok és gyártók eredményei közt. A minőség javításához további erőfeszítésekre van szükség a laboratóriumok közti variációk csökkentésével (EurA1c, 2018).

### **5.3. Az immunoassayk standardizációja és harmonizációja**

Az immunoassayk antigén-antitestkapcsolódáson alapuló vizsgálatok, amelyekben monoklonális vagy poliklonális antitestet használnak. Két alapvető csoportjuk a kompetitív és nem-kompetitív/immunometrikus módszerek, amelyek homogén vagy heterogén rendszerben működhetnek. A kompetitív módszerek az analitra specifikus antitesteket alkalmaznak és elsősorban kis molekulák ( $M_s \leq 1000$  Dalton) meghatározására használják őket. Az immunometrikus módszerek többnyire nagy molekulák ( $M_s > 1000$  Dalton) analízisére alkalmasak, két analitra specifikus antitestet alkalmaznak, amelyek a mérendő molekula két különböző részére specifikusak. Az immunoassayk jellegzetességei az antitestek tulajdonságaiból következnek. Az antitestek a természetes és mesterségesen előállított vegyületek, biomolekulák, sejtek, vírusok rendkívül széles köréhez képesek kötődni, egyedülálló specificitással kötődnek a megfelelő antigénhez, továbbá az antitest és a target között erős nem kovalens kötés jön létre, amely az immunoassay lépései során stabil marad.

Általánosan használt immunoassay formátumok: enzimmel erősített immunoassay (Enzyme Multiplied Immunoassay/EMIT), fluoreszcens polarizációs immunoassay (Fluorescent Polarization Immunoassay/FPIA), klónozott donor enzim immunoassay (Cloned Donor Enzyme Immunoassay/CEDIA), mikropartikulum enzim immunoassay (Microparticle Enzyme Immunoassay/MEIA) és kemilumineszcens immunoassay (Chemiluminescent Immunoassay/CLIA).

Az immunoassaykben számos interferencia hatással lehet az eredményekre:

- endogén komponensek: bilirubin, hemoglobin, lipidek, paraproteinek
- interferencia más endogén vagy exogén komponensekkel

A méréseket nagymértékben befolyásolja az egér anti-humán heterofil antitestek (human anti-mouse antibodies/HAMA) jelenléte. Heterofil antitestek az emberek állatokkal vagy állatokból származó készítményekkel történő érintkezésekor képződnek. A HAMA fals negatív vagy fals pozitív eredményeket okozhat, megváltoztatva a valós eredményeket, és

ennek következtében a korrekt diagnózist. A diagnosztikus tesztekben a HAMA hatásának elkerülésére kimérikus vagy teljesen humanizált antitestek használata nyújt lehetőséget. A HAMA-n kívül interferenciát okozhatnak a makro-analitikumok is (az analit endogén konjugátumai, makro-enzimek, biotin, reuma faktorok, autoantitestek). A szendvics immunoassayk jellegzetessége a prozóna-hatás vagy Hook-effektus, ekkor az analit extrém nagy mennyiségben van jelen a mintában és telíti mind az elfogó, mind a jelölő antitest kötőhelyeit, így a szendvics-komplex, melyben egy analit-molekulához egy elfogó és egy jelölő antitest kapcsolódik, nem az analit valós mennyiségének megfelelő arányban alakul ki, így a mért koncentráció alacsonyabb a valós értéknél (Dasgupta et al, 2014a).

Az immunoassaykben a kimutathatósági határ függ a jelöléstől, a platformtól, az inkubálási időtől, az alkalmazott puffertől és egyéb tényezőktől, amelyek közül a legkritikusabb az alkalmazott antitestek affinitása. Az immunoassayk standardizációja a protein- és haptén-immunoassayk esetén különböző. Számos szteroidhormon-assayre tiszta standardok és tömegspektrometrián alapuló referencia-módszerek állnak rendelkezésre (Stöckl et al, 1996). A tömegspektrometria azonban nem megfelelő a kis koncentrációban jelen levő proteinekre és hapténekre (Stenman, 2001). Az immunoassayk standardizációja eltérő a különböző analitikumok esetén. A szteroidhormonok esetén a rokonvegyületek és a komplexképződés jelenti a problémát. A korábban használatos extrakciós módszerek nem kompatibilisek az automatákon alkalmazott módszerekkel. Annak ellenére, hogy standard módszerek állnak rendelkezésre, a módszerek érzékenysége és pontossága számos automata módszer esetében eltérést mutat. A biológiai folyadékokban található protein és peptid antigének heterogenitása megnehezíti a standardizációt. A hormonok esetében az immunológiai reaktivitás és bioaktivitás eltérő lehet. Az IFCC az SI egység használatát javasolja, az ehhez szükséges moláris koncentráció meghatározása aminosav-analízissel lehetséges. Referencia-módszereket számos szteroid hormonra állapítottak meg (Stöckl et al, 1996), de a fehérjék közül csak a hemoglobin A1c-re és apolipoprotein A1-re (Kobold et al, 1997). Azokra a módszerekre, amelyekre standardizálás nem áll rendelkezésre, a harmonizáció jelenthet megoldást pl. a CA-125 esetén. A laboratóriumi eredmények interpretálásakor a kockázatbecslés is fontos, annak a valószínűségnek a megadása, hogy egy adott eredmény milyen valószínűséggel jelez egy bizonyos diagnózist, ezért kockázati algoritmusok kidolgozására is szükség van (Stenman, 2001).

#### **5.4. A tumormarkerek standardizációja és harmonizációja**

A tumormarkerek a daganatos betegek szérumban emelkedett koncentrációban jelenlévő, gyakran heterogén kémiai szerkezetet mutató anyagok, amelyeket tipikusan immunoassayvel mérnek. A tumormarkerek egy része sejtalkotó molekula vagy sejt felszíni fehérje, másrészt lehetnek különböző fehérjék ill. szekretált hormonok. A tumormarkereketsorban monitorozásra használják, ezen kívül segíthetik a diagnózis felállítását, prognosztikai szerepük lehet, esetleg szűrővizsgálatként is alkalmazhatók (Sturgeon, 2016).

A tumormarkerek monitorozására a WHO nemzetközi standardokat (International Standards/IS), nemzetközi referencia-preparátumokat (International Reference Preparations/IRP) és/vagy referencia-reagenseket (IRR) hozott létre, amelyek jelenleg a következő tumormarkerekre állnak rendelkezésre: AFP, CEA, PSA, fPSA, hCG és hCG-vel összefüggő formák. Egy adott anyagra rendelkezésre álló referencia-anyag nem garantálja szükségszerűen az eredmények összehasonlíthatóságát és végzetes hibákhoz vezethet, ha a referencia-anyag nem kommutábilis (pl. az endogén analitra) (Miller et al, 2006). Az  $\alpha$ -fötóproteín esetében kimutatták, hogy a WHO referencia anyag vízben történő hígítása a kommutabilitását bizonyos koncentráció tartományra korlátozhatja (Yue, 2017). A hCG-re széleskörű ajánlást dolgoztak ki arra vonatkozóan, hogy melyek a legmegfelelőbb antitestpárok (kombinációk) a klinikai vizsgálatokban onkológiai vagy gynecológiai területen. Más tumormarkerek esetén összehasonlító epitóp-mapping vizsgálatok segíthetnek a harmonizáció és standardizáció vonatkozásában (Berger, 2016). A módszerek és laboratóriumok közti nagy variancia a mérendő anyag komplexitását tükrözi (az AFP 5 CV%-ától a CA19-9 25%-ig, az EQA körkontrollok eredménye alapján).

A tumormarkerek standardizálásának javítása több szempontból is fontos: egyrészt a tumormarkerek elsődleges felhasználása a tumoros betegek hosszútávú monitorozása; másrészt az adott beteg tumormarkereinek koncentrációjában bekövetkező változásokat nagymértékben befolyásolja, hogyha az eredmények különböző laboratóriumok eltérő módszereiből származnak, vagy ha egy laboratóriumban módszerváltás következik be. Ráadásul a különböző módszerekből adódó különbségek nehezen összehasonlíthatóvá teszik az eredményeket klinikai tanulmányokban is. Nemzetközi megegyezésre van szükség abban is, hogy a mérendő anyag melyik molekuláris formájának van klinikai használhatósága. Azonosítani és adaptálni kell a kalibráló anyag tiszta molekuláris formáját, és az optimális detektáláshoz definiálni kell az antitest-specifitását.

A tumormarkerek eredményeinek különbözőségét három fő tényező okozza:

- hiányzik a pontos kalibráció egy megfelelő, univerzális, kommutábilis nemzetközi standarddal;
- hiányzik annak az ismerete, hogy klinikailag mit a legrelevánsabb mérni;
- hiányzik a széleskörű megegyezés arra vonatkozóan, hogy mi a klinikailag legmegfelelőbb antitest-specifititás az optimális immunoassay tervezéshez.

### **5.5. A kardiális markerek standardizációja és harmonizációja**

A kardiális markerek a szívet ért károsodás vagy stressz hatására a keringésbe kerülő endogén anyagok, kimutatásuk elsősorban immunoassay-vel történik. Az akut miokardiális infarktus (AMI), a szívelégtelenség és a kardiovaszkuláris betegségek (CVD) kockázatbecslése során számos laboratóriumiparamétert használnak (mioglobin, kreatin-kináz izoenzim/CK-MB, kardiális troponin I és T/ cTnI is cTnT, B-típusú natriuretikus peptidek/BNP, C-reaktív protein/CRP, mieloperoxidáz) (Tang et al, 2007; Chacko et al, 2018). A mioglobin a legkorábbi, de nem specifikus markere a szívizomkárosodásnak, magas negatív prediktív értékkel. A CK-MB mérés a troponin meghatározás bevezetése előtt gold standard módszer volt, de napjainkban a cTnI/T mérés számít a leginkább ajánlott markernek (Dasgupta et al, 2014b). Az akut koronária szindróma legfontosabb laboratóriumi paraméterei a mioglobin, a CK-MB mass és a cTnI/T. Ezen markerek koncentrációit immunoassaykben a megfelelő antigének ellen irányuló monoklonális antitestek segítségével mérik, az antitestek a vérben ugyanazon markeren eltérő epitópotkat ismernek fel. A mérési eredmények függenek a mátrixtól, amelyben a kalibrátor fel van oldva (puffer vagy mesterséges szérum a natív szérum helyett), ennek következtében a mérési eredmények egy bizonyos módszerre vagy analitikai rendszerre jellemzőek (Apple, 1999; Panteghini et al, 2001).

#### **5.5.1 CK-MB, cTnI/T és mioglobin mérések standardizációja és harmonizációja**

A kardiális markerek mérésének standardizálási problémája az entitások elégtelen definíciójából ered. A cTnI esetében például tisztázni kell, hogy a megjelölés mire vonatkozik:

- a különböző formák keverékére (szabad és troponin C és T komplexekre vagy csak a prevalens formára)
- kompozíciós osztályokra (oxidációs, foszforilációs értelemben)

- tartalmi osztályokra (foszforiláció százaléka stb.)

Ez a mikroheterogenitás a molekula egy egyedi, invariáns részének a definíciójával kiküszöbölhető pl. a molekula centrális részén található epitóp definíciójával, amit nem befolyásol az IC vagy ITC komplex képződés és más *in vivo* módosítás. Olyan antitesteket kell használni az immunoassayokban, amelyek ezeket az epitópokat megbízhatóan ismerik fel a cTnI mérésekben (Panteghini, 2004). Az AACC (American Association for Clinical Chemistry) egy munkabizottsága és az IFCC C-SMC1 azonosított egy humán szívizomból tisztított referencia-anyagot, ami a troponin C és T komplexe (Christenson et al, 2001).

A mioglobin és CK-MB esetén egyszerűbb a helyzet, egy egyszerű polipeptid láncból álló, kb. 17 kDa tömegű, humán eredetű fehérje könnyen előállítható és felhasználható immunogénként vagy kalibrátorként (Wu et al, 1999). Egy heterodimer fehérje esetén, mint pl. a CK-MB, alternatív módszerként a rekombináns DNS technológia szolgáltat tisztább és homogénebb fehérjét (Christenson et al, 2001).

Az elsődleges referencia anyaghoz tartozó értékek vonatkozásában különböző javaslatok születtek:

- tiszta fehérjék esetén mol/L értékben kell kifejezni a moláris koncentrációt az aminosavszekvencia-analízissel pontosan meghatározott molekulatömeg ismeretében (Stenman, 2001);
- a koncentrációt tömegszázalékban kell kifejezni, mivel a molekulatömeg a fehérje biológiai állapotával változhat (Whicher et al, 1994),
- más szerzők az elsődleges referencia-anyag tömegét egy definiált (NIST SRM 927) referencia-anyagra (albuminra) vonatkoztatva adják meg (Panteghini, 2004).

Az elsődleges referencia anyagok előállításának nehézsége, hogy a tisztítási eljárások az antigén részleges degradációjához vezethetnek, a standard nem lesz kommutábilis a natív mintákkal, a rekombináns technikával előállított vegyületek esetén pedig várhatóan nagy mátrixhatással lehet számolni. A másodlagos referencia-anyagok előnye, hogy a mátrix a klinikai mintákhoz hasonló (defibrinált, lipidmentesített plazma).

Referencia mérési eljárásnak tömegspektrometriát, majd újabban monoklonális antitesteket használó immunológiai referencia-módszereket javasoltak.

A cTnI mérés referencia-mérőrendszerére 2011-ben tett javaslat az alábbiakat tartalmazza (Tate et al, 2011):

Tisztított referencia-anyag: NST SRM 2921; elsődleges referencia-módszer: RP-LC és aminosav-analízis, másodlagos referencia-módszer: nem kereskedelmi immunoassay a kereskedelmi immunoassayokhoz összevethető antitest-specifitással, szérum-alapú



(kommutábilis) referencia-anyag, gyártó által kiválasztott immunoassay, gyártó munkakalibrátora, gyártó által biztosított kalibrátor. Az eredmények megadása SI egységben (nmól/L) történjen. A troponin mérések alacsony szenzitivitásának kiküszöbölésére és az alsó detektálási határ kiterjesztésére nagy szenzitivitású troponin méréseket használnak. Mivel az egészségesek többségében troponin detektálható, ezért a normál értékek és 99% percentilis értékek még pontosabb meghatározására van szükség (Twernbold et al, 2011).

#### 5.5.2. BNP és NT-pro-BNP standardizációja és harmonizációja

A szívelégtelenség diagnózisára és monitorozására a B-típusú natriuretikus peptidet és az NT-proBNP-t használják, amelyek a keringésben többféle pro-BNP-ből származó fragmentumok formájában vannak jelen (Tamm et al, 2008). Az NT-pro-BNP kimutatását a BNP glikozilációja befolyásolja, a BNP egy instabil molekula. Számos tanulmány bizonyította a BNP és NT-pro-BNP mérések közti eltéréseket, ami a standardizálás szükségességét mutatja. 2012-ben specifikus életkorfüggő cut-off értékeket állapítottak meg a BNP-re és NT-proBNP-re (McMurray et al, 2012). A BNP mérések pontosságát és szenzitivitását a Hytest cég növelni tudta egy egyszeri epitóp szendvics immunoassay (Single Epitope Sandwich/ SES assay) kidolgozásával (HyTest). 2012-ben életkorfüggő referencia-értékeket állapítottak meg a BNP és NT-proBNP mérésekre, ezek azonban nem assay-specifikusak (McMurray et al, 2012). A betegek klinikai monitorozása során azonban elengedhetetlen feltétel az eredmények egyezősége. Az ekvivalencia hiányát a jelenlegi BNP módszerekben az antitestek sokfélesége okozza (a befogó és detektáló antitestek különböző epitóp-specifitása) és a kalibrációhoz szükséges közös referencia-anyag hiánya (Semenov et al, 2017). A meglévő módszerek specifitásának növelése nem oldható meg könnyen, jelenleg nincs kísérletes adat arra vonatkozóan, hogy a specifikus BNP vagy pro-BNP formáknak előnye lenne a ma általánosan alkalmazott totál BNP méréssel szemben. Összehasonlítva az immunoassayk specifitását glikozilált, nem glikozilált BNP, NT-proBNP és proBNP peptideket alkalmazva az immunoassaykben megvizsgálták ezeknek a peptideknek a keresztreaktivitását. A BNP, vagy NT-proBNP eredmények nem voltak transzferábilisak a jelenleg alkalmazott immunoassaykben, egyrészt a keresztreaktivitásuk miatt, másrészt mert a pro-BNP-ből származó fragmentumok különböző formáit ismerik fel. Emiatt a BNP és pro-BNP módszerek standardizálása és harmonizálása, továbbá specifikus pro-BNP módszerek kifejlesztése szükséges ahhoz, hogy a klinikai használatukat kiszélesíthessék (Saenger et al, 2017). A BNP immunoassayk közös kalibrátorának a

rekombináns glikozilált proBNP ígértesnek látszik, csökkentheti a különböző módszerek közötti és a BNP koncentrációk jobb összehasonlíthatóságát teheti lehetővé (Semenov et al, 2017).

## **5.6. A gyógyszerszint-meghatározások standardizációja és harmonizációja**

A terápiás gyógyszerszint-monitorozás (TDM) célja a gyógyszeres kezelések optimalizálása, egyénre szabása, a maximális hatásosság elérése és a nem kívánt mellékhatások minimálisra csökkentése. A TDM-et szükségessé teszi a szűk terápiás tartomány, a terápiás tartomány interpretálásának nehézsége, az alul- vagy felüldozírozás lehetséges súlyos következményei (kórházi ellátást igénylő gyógyszer toxicitás, gyógyszerszint-monitorozással elkerülhető irreverzibilis szervkárosodás vagy halál), a szignifikáns mértékű inter- és intra-individuális variáció (pl. drog-drog interakciók), és a gyógyszer plazma- vagy teljesvér-koncentrációja és terápiás válasza/ toxicitása közötti összefüggés. Terápiás gyógyszerszint-monitorozást általában akkor lehet elrendelni, ha a gyógyszer elérte a steady state állapotát.

A gyógyszereknek a szérumfehérjékhez való kötődésük mértékétől függően a szabad vagy totál (szabad+fehérjéhez kötött) szintjét mérik (Dasgupta et al, 2014c). Az alkalmazott gyógyszerek farmakokinetikája (féléletidő, steady state) függvényében határozzák meg a mintavételi időpontokat. A leletek interpretálásánál a mintavétel és az utolsó dózis időpontját, a gyógyszeradás módját és a gyógyszerek terápiás tartományát meg kell adni.

A TDM-ben alkalmazott módszerek és a hozzájuk kapcsolódó interferenciák:

- Immunoassay (EIA/Enzyme Immunoassay, CLIA/Chemiluminescent Immunoassay, RIA/Radioimmunassay): leggyakrabban alkalmazott módszerek, gyakori az interferencia
- Gázkromatográfia (GC)- lángionizációs vagy nitrogéndetektálásos: illékonyabb anyagok meghatározására alkalmas (pl. phenobarbital)
- Tömegspektrometriával kombinált gázkromatográfia (GC/MS): élvezeti szerek, illékony anyagok meghatározására alkalmas, nagyon specifikus, viszonylag interferenciamentes.
- Nagyteljesítményű folyadékkromatográfia (HPLC) UV vagy fluoreszcens detektálással: széleskörűen alkalmazott módszer, ha kereskedelmi forgalomban levő

immunoassay nem áll rendelkezésre; poláris (kevésbé illékony) és nem poláris (illékonyabb) anyagok egyaránt vizsgálhatók.

- HPLC tömegspektrometriával (LC/MS) és tandem tömegspektrometriával (LC/MS/MS) kombinálva: gold standard a TDM-ben, viszonylag interferenciamentes (Adaway et al, 2012), a lehetséges mátrixhatásokat a nagy extrakciós és kromatográfiás hatékonyság (SPE vagy 2D-kromatográfia) és a stabil izotóp belső standard minimalizálhatja (van Eeckhaut et al, 2009).
- Farmakogenetikai vizsgálatok

### **5.6.1. Az antiepileptikumok monitorozása**

Az antiepileptikumok terápiás és toxikus tartománya egymáshoz közel esik, ezért hosszú távú alkalmazásuk során szükség van a gyógyszerszintek monitorozására. A klasszikus antiepileptikumok meghatározására (fenitoin, karbamazepin, fenobarbitál és valproinsav) immunoassayk állnak rendelkezésre. Ezekben jelentős interferenciát okozhatnak a rokon vegyületek, metabolitok és mátrixhatások. A fenobarbitál és valproinsav immunoassay mérések általában interferencia-mentesek, míg ez a jelenség a karbamazepin és fenitoin immunoassaykben jelentősnek mondható, szemben a HPLC és LC/MS módszerekkel. A karbamazepin 10,11-epoxiddal való interferenciája 0-96% közötti, ami pl. a PETINIA (particle enhanced turbidimetric inhibition immunoassay) módszer esetén felülmérést eredményezhet a karbamazepin koncentrációjában, illetve az antihisztaminok (hidroxizin, cetirizin) ugyancsak interferenciát mutatnak ebben a meghatározásban. A fenitoin előalakja a fenitoin foszfát-észter fosfenitoin, ami a gyógyszer beadása után gyorsan fenitoinná alakul, a monitorozást csak a teljes konverzió után lehet elkezdeni (Dasgupta et al, 2014d). Az említett négy antiepileptikum meghatározására LC/MS/MS módszert is kidolgoztak (Dupouey et al, 2016). A karbamazepin meghatározására szolgáló LC-MS/MS módszert referencia-módszerként javasolják (Taibon et al, 2017) humán szérumban történő TDM-re. Valproinsav meghatározására szenzitív LC-MS módszert írtak le, melyben a valproinsav kalibrációs standard mellett az MS meghatározás fragmentációs analízisének elősegítésére furoszemid belső standardot alkalmaztak (Soni et al, 2016). Az antiepileptikum referencia-tartományának folyamatos felülbírálatát hangsúlyozza egy napjainkban megjelent közlemény (Reimers et al, 2018).

### **5.6.2. Az immunoszuppresszánsok monitorozása**

Az immunoszuppresszív szereket a graft kilökődésének megakadályozására alkalmazzák a szervtranszplantációk során. Monitorozásuk azért fontos, mert toxodinamikai hatásukat nehéz megkülönböztetni a klinikai betegségtől, a dózis/hatás összefüggés nagy intraindividuális különbséget mutat, az idős és pediátriai korosztályban pedig még szorosabb követésre van szükség. Általában az alábbi, szűk terápiás tartománnyal rendelkező szereket monitorozzák: ciklosporin, takrolimusz, szirolimusz, everolimusz és mikofenolsav. Ezeket részben immunoassay platformon mérik (fluoreszcenciás vagy elektrokemilumineszcenciás, sandwich ELISA) (Wilson et al, 2006), de egyre inkább előtérbe kerülnek LC-MS/MS módszerek (Zhang et al, 2017; Annesley et al, 2013; Becker et al, 2013).

A mérések laboratóriumon belüli és laboratóriumok közötti variációjának egyaránt alacsonynak kell lenni, mivel a betegeket különböző helyeken és különböző módszerekkel vizsgálhatják. Az immunoszuppresszánsok meghatározására a különböző laborokban különböző elven működő, eltérő formátumú, több paramétert egyidejűleg mérő (multiple) rendszereket alkalmaznak. Egy összehasonlító tanulmány alapján a közös kalibrátor használata sem csökkentette az interassay variációt az immunoassay és az LC-MS/MS rendszerek között (Christians, 2015). Ennek oka a laboratóriumi eljárások és folyamatok standardizálásának hiánya; a megfelelő referencia-standard használatának hiánya (pl. izotóppal jelölt belső standard az LC-MS/MS esetén); továbbá nem a „good laboratory practices” elvet követő laboratóriumi gyakorlat (minőségi kontroll, minőségbiztosítás, validálás, személyzet képzése).

Az analitikai módszerek standardizálásának szükségességét számos tanulmány hangsúlyozza (Filler et al, 2014; Agrawal et al, 2014). A Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology Immunosuppressive Drug Scientific Committee 2016-ban ajánlást tett közzé az immunoszuppresszánsok megfelelő analitikai teljesítményének meghatározására (Seger et al, 2016), amely kiterjed az analitikai folyamat minden fázisára.

### **5.6.3. Az antibiotikumok monitorozása**

A legtöbb antibiotikum széles terápiás tartománnyal rendelkezik, a toxicitás elkerülésére plazmakoncentrációjuk ellenőrzésére nincs szükség. A klinikai laboratóriumokban a leggyakrabban monitorozott, szűk terápiás tartománnyal bíró antibiotikumok az aminoglikozidok és a vankomicin, amelyeket súlyos szisztémás infekciók

kezelésére alkalmaznak. Nem megfelelő adagolásuk súlyos nefro- és ototoxicitást okozhat. A toxicitás elkerüléséhez a csúcs- és völgykoncentrációkat egyaránt szükséges monitorozni. Az aminoglikozidok és a vankomicin meghatározására szolgáló immunoassayk esetén kevéssé kell interferenciával számolni, néhány esetben azonban a paraprotein (Simons et al, 2009), más esetekben a vankomicin degradációs termékek okoztak interferenciát (Morishige et al, 1996). Az LC-MS/MS használata nagyobb specificitása miatt lehet előnyös. Totál gentamicin meghatározásra egy validált referencia-módszernek alkalmasnak látszó LC-MS eljárást közöltek NMR-rel jellemzett kalibrátor felhasználásával (Lucha et al, 2017).

#### **5.6.4. A szívre ható gyógyszerek monitorozása**

Számos kardioaktív szer monitorozását végzik rutinszerűen a klinikai laboratóriumokban (digoxin, prokainamid, lidokain és inidin), ezek szérumkoncentrációja és farmakológiai válasza között jól ismert az összefüggés. A digoxin monitorozását nehezíti a nagyon keskeny terápiás tartomány; a terápiás és toxikus tartományok közötti átfedés; az exogén és endogén faktorok; továbbá az, hogy a digoxin-túladagolás Digibind-del vagy DigiFab-baltörténő kezelése során a szabad digoxinszintet kell monitorozni, ugyanis a totál digoxinszint ez esetben csökkenés helyett emelkedést mutat (Dasgupta et al, 2014d). A digoxinmérés eredményét a digoxin-like anyag jelenléte befolyásolhatja (Morriset al, 2006). A digoxin-toxicitás elkerülése érdekében a digoxin koncentráció felső limitjének megadását javasolták (Sameriet al, 2002). Egy tanulmányban a betegek vesefunkciójától függő digoxin koncentráció monitorozásának kidolgozását szorgalmazták nagyszámú beteg adatai alapján (Zhao et al, 2014). A szérum digoxin koncentrációjának megbecsüléséhez az ún. Konishi egyenletet alkalmazzák, melyet eredetileg japán populációra állapítottak meg és ennek érvényességét más populációkra még jelenleg is vizsgálják (Jiratham-Opas et al, 2018). A procainamid egy aktív N-acetil-prokainamid (NAPA) metabolittá bomlik, amit toxikus hatása miatt szintén szükséges monitorozni (Orrico et al, 2011).

#### **5.6.5. Az antidepresszánsok monitorozása**

A szelektív szerotonin visszavétel gátlók (SSRI/Selective Serotonine Reuptake Inhibitor), a szerotonin noradrenalin visszavétel gátlók (SNRI/Serotonine Norepinephrine Reuptake Inhibitor), a monoamin-oxidáz gátlók (MAOI/ Monoamine-oxidase Inhibitor) és a triciklikus antidepresszánsok (TCA/Tricyclic Antidepressant) monitorozása nem szükséges

rutinszerűen, de koncentrációjuk követése hasznos lehet non-adherens esetekben vagy túladagolás veszélye esetén (Fiaturi et al, 2018). A különböző SSRI-k eltérőek a gyógyszerkölcshatások tekintetében, így plazmakoncentrációjuk monitorozása segíthet a biztonságos kezelési mód kiválasztásában. Az SSRI-k közül a fluoxetin terápia abbahagyása után szükséges lehet a jelenlévő aktív metabolit, a norfluoxetine koncentrációjának meghatározása. Az SNRI-k közül a venlafaxin és aktív metabolitjának koncentrációját a nem, életkor és dohányzás is befolyásolja (Vu et al, 1997). A TCA-k alacsony plazmakoncentrációja miatt monitorozásukra specifikus és szenzitív módszereket kell alkalmazni. Az antidepresszánsok monitorozására leggyakrabban HPLC-t és LC-MS/MS-t alkalmaznak (Hoskins et al, 2001; Tricyclic antidepressants, Task Force, 2006; Adaway et al, 2012). A mérések standardizálásakor a mintagyűjtés módja és ideje, a mintatárolási eszköz és a minta szállítása, az analitikai eljárás minőségi kontrollja, továbbá az eredmények interpretálása alapvető fontosságú.

#### **5.6.6. A daganatellenes szerek monitorozása**

Az ún. klasszikus daganatellenes szerek többségét nem szükséges monitorozni, kivételt képez a nagy dózisban alkalmazott metotrexát, ami a purinszintézis gátlása révén megakadályozza a sejtosztódást. Sürgős vizsgálatkérés esetén automatizált immunoassayk állnak rendelkezésre, de meghatározására LC/MS/MS módszereket is kifejlesztettek (Thappaliet al, 2012; Derissenet al, 2015).

A célzott daganatellenes szereket (a monoklonális antitesteket és a szignál transzdukciós inhibitorokat) alapvetően az előírt dózisban kell alkalmazni, terápiás használatukat azonban az egyénre szabott dózissal és a koncentrációjuk monitorozásával optimalizálni lehet (Widmeret al, 2014; Decosterdet al, 2015). Kimutatásukra elsősorban LC-MS/MS módszereket alkalmazhatnak (Haoualaet al, 2009;Cardoso et al; 2018; Dahmanet al; 2010, Formasaroet al, 2018). Multicentrikus tanulmányt először CML-es betegeken Svájcban végeztek, azonban az alacsony betegszám miatt azonban nem tudták egyértelműen demonstrálni a TDM hasznosságát imatinib esetén, de a vizsgált betegcsoportban a nemkívánt események kisebb számban fordultak elő (Gottaet al, 2014).

### **5.6.7. A bronchodilatátorok monitorozása**

Az asztma és a krónikus obstruktív tüdőbetegség esetén alkalmazott theofillint szűk terápiás tartománya, nagymértékű variabilitást mutató clearance-e és súlyos, koncentrációfüggő mellékhatásai miatt, az apnoe kezelésére használt koffeint koraszülöttekben és újszülöttekben történő alkalmazása miatt szükséges monitorozni (Aranda et al, 1987; Lopez-Sanchez et al, 2018). A teofillinre ráadásul kiterjedt gyógyszerkölsönhatási profil jellemző, ami potenciális adverz hatást vált ki a többszörös gyógyszerkezelésben részesülő betegekben (Snell, 1994). A teofillin és a koffein standardizált monitorozása céljából 1998-ban tettek ajánlást a TDM paraméterekre (mérési időpontok, mintavétel módja és ideje, minőségbiztosítási szempontok) (Pesce et al, 1998). Referenciaanyagok mindkét meghatározáshoz egyaránt rendelkezésre állnak (Thomas et al, 2004; Thomas et al, 2007).

### **5.6.8. A fájdalomcsillapítók (analgetikumok) monitorozása**

A fájdalomcsillapítók (analgetikumok) alkalmazása általában biztonságos, azonban súlyos toxicitás fordulhat elő akut túladagolás, nem megfelelő krónikus használat és túlzott mértékű használat esetén (White et al, 1999). Az analgetikumok és metabolitjaik kimutatására és monitorozására egyszerű színreakción alapuló spot tesztek, enzimikus módszereket, vékonyréteg-kromatográfiát, gázkromatográfiát, HPLC-t és érzékeny elektrokémiai módszereket alkalmaznak. A monitorozásra vonatkozóan részletesebb ajánlást White és munkatársai közöltek 1999-ben (White et al, 1999). Mérésük a következő esetekben javasolt: feltételezett toxikus hatás esetén; ismeretlen mennyiségű ismeretlen drog bevételekor; azon betegcsoportok azonosítására, ahol nagyobb analgetikum-toxicitás és gyógyszerkölsönhatás várható; továbbá a teljes gyógyszer abszorpció és a gyógyszertúladagolás azonosítására (Jannetto et al, 2009). Az opioidokat a szérumban rutinszerűen nem monitorozzák, mivel nincsenek jól megállapított referencia-tartományok és -módszerek, valamint biztonságosnak tekinthető az alkalmazásuk. Vizeletből történő kimutatásuk általában egy screening immunoassayvel indul, melyet számos drog vagy drog osztály (opiátok) vizsgálata követ. Ezek az immunassayk azonban nem teljesen specifikusak és szenzitívek, gyakran fals negatívak egyes vegyületekre (Nafziger et al, 2009). A vizelet opiát szűrőmódszerek csak a beteg előző 2-3 napi opiátbevitelét mutatják ki, a jelenlévő opiátok meghatározására specifikusabb módszerek (GC/MS, HPLC/MS) szükségesek. A vizelet gyógyszerszint

monitorozás nem használható fel a vérbeli koncentráció és a terápia hatásosságának megítélésére, így csak korlátozott információval rendelkezik a fájdalom kezelése szempontjából. Egyes opioidok (pl. oxikodon) esetén, ahol az opioid terápia tartomány a fájdalom csökkentésével összefüggést mutat, javasolják a szérumban TDM alkalmazását, így a non-responder betegek azonosíthatóak (Janetto et al, 2009).

## **6. Standardizáció és harmonizáció a hemosztázisban**

A rutin laboratóriumok leggyakrabban végzett tesztjei a koagulációs szűrőtesztek, amelyeket a véralvadási rendszer extrinszik, intrinszik és közös útvonalának vizsgálatára és egyes antikoaguláns terápia monitorozására használnak. E teszteken kívül számos egyéb vizsgálat is létezik a koagulációs rendszer működésének felmérésére: a keverékes vizsgálatok, az alvadási faktorok és inhibitoraik aktivitásának és mennyiségének meghatározása; de a primer hemosztázis is vizsgálható a von Willebrand betegség irányú kivizsgálás során, illetve a trombocita funkciók tesztjeivel (Winter et al, 2017). Egyes laboratóriumokban a koagulopátiák mellett a veleszületett és szerzett trombofília kivizsgálására is lehetőség van – ez utóbbi csoportba tartozik a lupusz antikoaguláns meghatározása –, valamint a hagyományosokon túl a direkt antikoagulánsok laboratóriumi monitorozása is lehetséges. A hemosztázis vizsgálatok módszertanilag alvadási tesztek, kromogén vagy immunológiai módszerek, elektroforézis, aggregáció, de lehetnek áramlási citometriai vagy molekuláris genetikai vizsgálatok is (Winter et al, 2017; Woods et al, 2014).

A különböző vizsgálatok eredményeit a módszereknek megfelelően eltérő egységekben fejezik ki (koncentráció, idő, aktivitás, százalék, ráta). A hemostazeológiai módszerek esetén kevés a nemzetközi standard, a referencia értékek a laboratóriumok poolozott plazma értékeiből vagy a gyártó standardjából származnak. Az említett okok miatt a hemosztázis vizsgálatoknál a módszerek bevezetését analitikai és klinikai teljesítmény paraméterek validációjának kell megelőzni (Marlar et al, 2014). A koagulációs tesztek interpretálásának a tradíciók helyett az „evidencia-alapú medicinán” kell alapulnia (Rosenberg et al, 1995). A koagulációs tesztek esetén további nehézséget jelent a validáláshoz szükséges statisztikailag korrekt mintaszám (CLSI document H57-P, 2008). A hemosztázis vizsgálatok esetén csak az ún. „klinikai kémiai alapú” tesztek (immunprecipitáció, ELISA, kromogén, kemilumineszcens és nefelometriás módszerek) esetén kell a szigorú kritériumoknak megfelelően elvégezni a kiértékelést. A mérés eredménye és a valódi eredmény közti legszorosabb egyezést mutató pontosság (accuracy) a koagulációs tesztek



esetén,– amelyeknél időértékek vannak megadva – egyike a legbonyolultabb paramétereknek. A koagulációs módszerek esetén nincsenek „gold standard” módszerek vagy megállapított értékek, ennek a problémának a megoldására nemzetközi standardokat fejlesztettek ki (Hubbard et al, 2004; Hubbard, 2007). A laboratóriumoknak meg kell győződniük arról, hogy a standardjuk vagy kalibrátoruk visszavezethető egy elsődleges nemzetközi standardra vagy a gyártótól származó másodlagos standardra (Marlar et al, 2014). A pontossági vizsgálatokba, amelyek az intra- és interassay variabilitást is magukba foglalják, legalább 3 mintát kell bevonni (amely teszteknel ez lehetséges): normál, valamint alacsony és magas abnormál értékekkel, amelyek esetén az elfogadhatósági szintek eltérőek lehetnek. A specificitás érdekében a módszereknek meg kell különböztetniük a mérendő analitot a hasonló analitoktól és az interferáló anyagoktól, amelyek befolyásolhatják a mérési eredményeket. A kereskedelmi forgalomban lévő és elfogadott módszereknél a gyártóknak, a laboratórium által kifejlesztett tesztek esetén a laboratóriumoknak kell bizonyítani a specificitást. A módszerek validálásakor detektálási határt és a kvantitálási határt is meg kell határozni, ez alól az időalapú globális vagy szűrőtesztek kivételek (pl. protrombin idő, APTI). A validálás során meg kell határozni a linearitást és robusztusságot is. A hemosztázis és koagulációs módszerek validálására Marlar és munkatársai dolgoztak ki ajánlásokat (Marlar et al, 2014).

A hemosztázis laboratóriumok legáltalánosabban használt vizsgálata a protrombin idő (PI) meghatározás, amelyet nemzetközi normalizált aránnyá (International Normalised Ratio; INR) konvertálva a K-vitamin antagonistá terápia monitorozására használnak (Favaloro, 2017). Az INR megadásának célja a különböző laboratóriumok által, különböző koagulométereken, különböző tromboplastin reagensekkel mért PI időeredmények standardizálása. A beteg PI értékét az alábbi formula segítségével alakítják INR értéké:

$INR = (PT/MNPT)^{ISI}$ , ahol az MNPT az átlag normál PI (mean normal prothrombin time) és az ISI a nemzetközi szenzitivitási index (international sensitivity index)

Bár az INR számítás során figyelembe veszik a reagensek és a készülékek variabilitását, ezáltal csökken az interassay variabilitás és növekszik a teszt pontossága, ennek ellenére a laboratóriumok közötti INR eltérések még ma is jelentősek. Olson és munkatársai leírták az INR laboratóriumi közlésében történő fejlődést, továbbá változtatási javaslatokat tettek annak érdekében, hogy az INR érték jobban tükrözze a beteg koagulációs státuszát (Olson et al, 2007). A CLSI ajánlásainak megfelelően minden egyes koagulométerre is saját ISI értékek megállapítása javasolt (CLSI document H54-A, 2005). Az INR meghatározása az INR számításon kívül kereskedelmi forgalomban kapható referencia-plazma kalibrációs rendszerek segítségével is lehetséges, továbbá hitelesített kalibrátor plazma INR értékek és az adott

laboratóriumban mért PI eredmények alapján az interneten elérhető táblázatok (PT/INR Line) segítségével egyszerűen kiszámíthatók az INR értékek (Poller et al, 2011).

A szerzett trombofiliák egyik lehetséges oka a lupusz antikoagulans (LA) jelenléte, amelynek kimutatására jelenleg nem áll rendelkezésre specifikus teszt, meghatározása foszfolipid-függő tesztekkel lehetséges. A numerikus eredmények tesztfüggőek, így összehasonlításuk nehéz. Az eredmények megadása a beteg/ normál alvadási idők arányaként (LA-ráta) javasolt, és a különböző LA-teszteket egy közös standarddal szemben értékelve az ISI mintájára minden módszer esetén meghatározható egy ún. LA szenzitivitási index (LASI), amelynek segítségével az LA-ráta standardizált LA-rátává (SLA-rátává) alakítható (Tripodi et al, 2012).

Az utóbbi 10 évben az International Society on Thrombosis and Haemostasis Scientific and Standardization Committees (ISTH SSC) részéről 30-nál is több olyan közlés és ajánlás látott napvilágot, amely a hemosztázis vizsgálatok standardizációját és harmonizációját szolgálja (Favarolo et al, 2018).

## **7. Standardizáció és harmonizáció a hematológiában**

A kvalitatív és kvantitatív vérkép meghatározás a leggyakoribb rutin laboratóriumi vizsgálatok egyike, a perifériás kenetben látható sejtek fénymikroszkópos vizsgálata pedig változatlanul a laboratóriumi hematológia fontos része, azonban a kenetértékelés során használt terminológia kevésbé egységes, így az eltérések leírása rendkívül változatos lehet. A kenetértékelésre vonatkozó nemzetközi ajánlásokat Palmer és munkatársai foglalták össze (Palmer et al, 2015). Az ajánlás egyrészt a nevezéktan egységesítését szolgálja (pl. szisztocita elnevezés használata a fragmentocita helyett), másrészt a vörösvértestek, fehérvérsejtek és trombociták morfológiai eltéréseinek leírásához javasol egy értékelőrendszert. Ez utóbbi lényege, hogy az egyes morfológiai eltérések (pl. sarlósejtek, hipogranulált neutrofilek, óriástrombociták) feltüntetése csak mérsékelt és nagyarányú előfordulás esetén szükséges, ez alól egyedül a szisztociták jelenléte kivétel, amelyek esetén már 1% fölötti arány is klinikai jelentőséggel bír. A perifériás vér rutin kenetértékelése során 100, míg akut mieloid leukaemia és mielodiszpláziás szindróma esetén 200 fehérvérsejt morfológiájának vizsgálatát javasolják.

Brereton és munkatársai a hematológiai leleteken használt mértékegységekre vonatkozó nemzetközi ajánlásokat foglalták össze (Brereton et al, 2016). Ennek megfelelően az SI mértékegységek használata ajánlott, amely a vörösvértestszám esetén  $10^{12}/L$ , a

fehérvérsejt- és trombocitaszám, továbbá a magvas vörösvérsejtek száma és a retikulocitaszám esetén  $10^9/L$ . A kvalitatív vérkép esetén is az egyes fehérvérsejtek abszolút számának megadása javasolt a százalékos érték helyett. A hemoglobin koncentrációt g/L-ben, a hematokritot frakcióként vagy térfogatként (L/L) kell megadni, míg a vörösvértestek és a trombociták térfogatára vonatkozó paramétereket (MCV, mean cell volume; MPV, mean platelet volume; RDW, red cell distribution width és PDW, platelet distribution width) fL-ben kifejezve.

2016-ban a Working Group on Diagnostic Hematology of the Italian Society of Clinical Chemistry and Clinical Molecular Biology (WGDH-SIBioC) dolgozott ki ajánlást a laboratóriumi hematológiai interpretatív leletközlés egységesítésére, amelynek célja a megjegyzések számának csökkentése, a kenetleírások nyelvezetének standardizálása és érthetőbbé tétele, a leírások információ-tartalmának javítása és szükség esetén további diagnosztikai vizsgálatok indikálása a kenetértékelés során (Buoro et al, 2018). Az olaszországi laboratóriumokban végzett felmérés az interpretatív leletközlés nagyfokú heterogenitását mutatta a laboratóriumi hematológia területén. Ezt követően a WGDH-SIBioC kidolgozott egy leletközlő rendszert, majd a malignus hematológiai kórképek WHO klasszifikációjának 2016-os revíziója után átdolgozta a hematológiai leleteken használandó leírásokat és megjegyzéseket. Ennek megfelelően a fehérvérsejtek közül a limfociták leírásakor a „reaktív limfocita” megnevezést kizárólag benignus etiológia esetén javasolják használni, míg a valószínűsíthetően malignus esetekben az „atípusos limfocita” megnevezés ajánlott, e sejtek morfológiai leírásával együtt. Amikor ezen sejtek benignus vagy malignus eredete kétséges, körültekintő leírás szükséges azzal a kiegészítéssel, hogy javasolt a sejtek immunfenotípusának meghatározása. A reaktív vagy atípusos limfociták arányát akkor kell feltüntetni, ha 5% fölötti. Az atípusos limfociták közül a promielociták, hajassejtek és limfómasejtek, illetve a plazmasejtek és plasmablasztok arányának megadása külön is szükséges. A neutrofil granulocitáknál javasolják a promielociták, mielociták és metamielociták arányának feltüntetését; nyilatkozni kell a diszplasztikus (morfológiai eltérést mutató), valamint a hiperszegmentált (legalább 6 maglebenyt tartalmazó neutrofilek előfordulása makrocitózis mellett) neutrofil granulociták jelenlétéről, illetve arról, hogy látható-e a neutrofilekben fagocitált baktérium vagy gomba. A limfo- és mieloblasztok morfológiai elkülönítése olykor igen nehéz, ezért a diagnózis felállításához nem elegendő csak a morfológiai analízis, minden esetben szükség van az immunfenotípus meghatározására. A blasztok számának kenetben történő meghatározása alacsony blasztarány esetén nagyfokú variabilitást mutathat az egyes vizsgálók között. Senent és munkatársai perifériás vérben 1%

fölötti blasztarány esetén találtak jó vizsgálók közötti egyezést (Senent et al, 2013). Matsuda és munkatársai már 2%-os csontvelői blasztarány esetén megfelelőnek találták a morfológiai meghatározás reprodukálhatóságát (Matsuda et al, 2018), szemben Font és munkatársaival, akik 5% alatti csontvelői blasztarány esetén nagy vizsgálók közötti variabilitást mutattak ki (Font et al, 2014). Buoro és munkatársai legalább 200 sejt vizsgálatát ajánlják, amennyiben a perifériás vérben a blasztok aránya 0 és 1% közötti, és javasolják a leleten annak feltüntetését, hogy az alacsony blasztarány megállapítása hány sejt analízisével történt (Buoro et al, 2018). Külön feltüntetendő azon blasztok aránya is, amelyek tartalmaznak Auer-pálcát, citoplazmatikus granulációt, vagy éppen nincs bennük granulum, illetve a citoplazmájuk vakuolizált vagy a magjuk homokóra alakú.

A vörösvértestek morfológiai eltéréseit csak akkor kell leírni, amikor a vörösvértestek viszonylag nagyobb hányadát érintik és az eltérésnek klinikai jelentősége lehet (pl. dakriociták, Cabot-gyűrű, Howell-Jolly vagy Pappenheim-testek, bazofil punktáció). A sisztociták pontos százalékos előfordulását minden olyan esetben fel kell tüntetni a leleten, amennyiben a klinikai kérdés erre irányult vagy 1% fölötti az arányuk. A pénztekercképződés és a sarlósejtek jelenlétének értékelésekor fontos kizárni az artefaktum lehetőségét. A maláriával fertőzött vörösvértestek arányát 1000 vörösvértestre vonatkoztatva ajánlott megadni. Mivel a neonatális periódustól eltekintve a magvas vörösvérsejtek megjelenése a periférián mindig kóros, így a magvas vörösvérsejtek számát minden olyan esetben pontosan meg kell adni, amikor jelen vannak a perifériás kenetben, ugyanis prognosztikai jelentőséggel bírnak. A leleten az abszolút magvasvörösvérsejt-szám feltüntetése szükséges, amelyre a fehérvérsejtszámot korrigálni kell. A retikulocitózis és a retikulocitopénia segítheti a differenciál-diagnózist (pl. retikulocitózis szferociták, sisztociták vagy jelentős anizopoikilocitózis mellett hemolitikus anémiára utal), így anémia esetén ezen paraméterek feltüntetése javasolt.

A trombociták morfológiai abnormalitásait – a vörösvértestekéhez hasonlóan – csak akkor ajánlott leírni, ha azoknak klinikai jelentőségük lehet. Feltüntetendő az óriástrombociták (vörösvértestnyi méretű trombociták) és a mikrotrombociták (1 $\mu$ m-nél kisebb trombociták) jelenléte; továbbá a hipo- vagy agranulált és a diszplasztikus trombocitáké, ha a beteg trombocitopéniás; illetve esetleg kis megakariociták jelenléte a kenetben.

Nemcsak az egyes sejtekre, hanem magára a hematológiai minta egészére vonatkozóan is vannak megjegyzések, amelyek feltüntetése elengedhetetlen az eredmények megfelelő interpretációjához. Ilyenek például a minta alvadékosága, a citopénia, a magas hemoglobin koncentráció és hematokrit érték, a perzisztens trombocitózis ( $>450 \times 10^9/L$ ), dimorf

vörösvértetek jelenléte, vörösvértest-agglutináció (feltehetően hidegagglutinin következtében), EDTA-indukálta pszeudotrombocitopénia, perzisztens monocitózis ( $>1 \times 10^9/L$ ), perzisztens limfocitózis ( $>5 \times 10^9/L$ ), a nagy granulált limfociták emelkedett aránya ( $>2 \times 10^9/L$ ) és a szétesett sejtek jelenléte.

## **8. Az autoantitest mérések standardizációja és harmonizációja**

Az autoantitest mérések az autoimmun betegségek diagnózisának fontos eszközei, így az autoantitest mérések standardizációja és harmonizációja alapvető fontosságú (Meroni et al, 2014). Az autoantitestek a poszttranszlációs módosításoknak köszönhetően komplex és szerkezetileg heterogén molekulák, a biológiai folyadékokban az oligoklonalitás miatt számos típusuk fordul elő. Ez magyarázza, hogy az autoantitest vizsgálatok esetén referencia-anyagok nem állnak rendelkezésre, nagyon nehéz a standardizáció. Az autoantitest diagnosztika területén a harmonizáció az, ami elérhető, és ennek a teljes vizsgálati folyamatra kell vonatkoznia, beleértve a preanalitikai, az analitikai és a posztanalitikai fázist, az autoantitest terminológia harmonizációt és a laboratóriumi tesztek egységes nomenklatúrájának adoptálását (Tuzzoli et al, 2017). Az analitikai fázisban a mérések harmonizációja (egy mérendő anyagnak a különböző mérési eljárásokkal közölt értékei ekvivalensek legyenek), a posztanalitikai fázisban a közölt eredmények egységeinek standardizációja, a referencia-értékek és döntéshozatali értékek standardizációja az elérendő cél.

Az autoimmun betegségek klasszifikációjában és diagnózisában szerepet játszó autoantitesteket és a betegségekhez kapcsolódó klasszifikációs kritériumokat Meroni és munkatársai egy tanulmányban foglalták össze (Meroni et al, 2014). Két összefoglaló cikk részletesen elemzi az autoantitestek kimutatásának standardizációs problémáit (Meroni et al, 2014, Tuzzoli et al, 2017).

### ***8.1. Hep-2 sejteken végzett immunfluoreszcenciás szűrővizsgálat az autoantitestek kimutatására***

Az antinukleáris antitestek meghatározására szűrővizsgálatként a Hep-2 sejteken végzett immunfluoreszcens tesztet alkalmazzák. Az antinukleáris antitestek (ANA) esetében alapvető fontosságú a kezdő hígítás, a klinikailag releváns titer, a mintázat klaszifikációja, a diagnosztikus algoritmusok létrehozása (pozitív, ill. autoimmun reumás betegségeknel negatív ANA esetén a megerősítő/reflex tesztek meghatározása). A Hep-2 sejteken az autantitestekre

jellemző mintázat egységes értékelésére 2014-ben standardizált nomenklaturát alakítottak ki (Chan et al, 2015). A nagyszámú ANA mintázat Hep-2 sejteken szükségessé teszi az értékelő interpretációját a megerősítő tesztek mellett, azonban a betegségek kritériumait figyelembe véve nem minden mintázat esetén szükséges reflextesztet végezni, továbbá figyelembe kell venni a klinikai információkat. Az autoantitest-mintázatok értékelését tartalmazó véleményt befolyásolhatja a beteg kora és neme, valamint a rendelkezésre álló egyéb laboratóriumi vizsgálati eredményei; a véleménynek tartalmaznia kell az adott módszer diagnosztikai pontosságát, autoantitest pozitivitás esetén az egyes kórképekkel való korrelációt, és a diagnózis felállítását segítő laboratóriumi vizsgálatokat, amelyek elvégzése javasolt (Tonutti et al, 2007). Az antinukleáris autoantitestek automatizált immunfluoreszcenciás analízise elősegítheti kimutatásuk standardizációját (Zheng et al, 2017).

## ***8.2. A funkcionális autoantitest meghatározás standardizálási problémájának bemutatása a TSH receptor elleni antitest meghatározásán keresztül***

A Graves-Basedow kórban (autoimmun hipertireoiditiszben) a TSH receptor (TSHR) elleni antitestek három formája fordul elő: stimuláló, blokkoló és apoptotikus antitestek. A stimuláló antitestek patogének és hipertireózist okoznak, a blokkoló antitestek gátolják a pajzsmirigy funkcionális működését hipotireózist idézve elő, az apoptotikus antitestek („Cleavage” TSHR antitestek) pedig a TSHR szignál folyamatokban szerepet játszó régióhoz történő kötődés által a tirocitákt apoptózisához vezetnek (Morshed, 2015). A bioassayk a háromféle antitest funkcionális aktivitását határozzák meg, míg az immunoassayk a receptorhoz kötődő antitesteket mérik funkcionalitás nélkül. Egyes módszerek az antitesteknek csak egy részét mérik, míg a legújabb immunometrikus módszerek képesek funkcionális antitesteket specifikusan detektálni, különösen a stimuláló antitesteket. A rendelkezésre álló referencia preparátum („2nd International Standard for Thyroid Stimulating Antibody, NSHC code:80/204) segíti a harmonizációt. A laboratóriumi lelet létrehozásához Tuzzoli és munkatársai egy nomenklatúrára tettek javaslatot, amelyben meg kell jelölni az alkalmazott módszert (biológiai vagy immunometrikus) és specifikálni kell a teszt jellemzőit. Ez nem biztosítaná automatikusan a standardizációt, de a klinikus számára az eredmények jobb interpretálását tenné lehetővé (Tuzzoli et al, 2017).

## 9. A laboratóriumok minőségcéljainak elérését támogató lehetőségek

Az előző fejezetekben bemutatott és az 1. táblázatban összefoglalt standardizációs és harmonizációs törekvéseken kívül a platformfüggetlen kontrollok és a nemzetközi laboratóriumi adatkezelő programok használata is segíti a laboratóriumokat a minőségcéljaik elérésében, és ezáltal növelik a betegbiztonságot.

1. táblázat. Standardizáció és harmonizáció az orvosi laboratóriumi diagnosztika különböző területein

STANDARDIZÁCIÓ	HARMONIZÁCIÓ
Enzimmérések (CK, LDH, GOT, GPT, GGT, ALP, $\alpha$ -amiláz)	TDM (tacrolimus)
Immunoassayk (D-vitamin, szteroid hormonok, CK-MB, myoglobin, cTnT/I)	Immunoassayk (BNP, pro-BNP)
Tumormarkerek (AFP, hCG, CEA, PSA, fPSA)	Tumormarkerek (CA-125, CA-15-3)
HbA1c	Hemosztázis
	Hematológia
	Autoantitest meghatározások

### 9.1. A platformfüggetlen kontrollok jelentősége

A különböző ajánlások - köztük az ISO15189:2012- független kontrollanyagok használatát javasolják a reagens vagy készülék gyártója által ajánlott helyett vagy mellett. A készülék gyártói által biztosított kontrollokat gyakran ugyanabból az anyagból állítják elő, mint a kalibrátorokat, ezáltal kevésbé érzékenyen mutatják a készülékek megfelelő működését, elmulaszthatják az analitikai hibák kimutatását, ami pontatlan adatok közlését eredményezi. A gyártók által biztosított kontrollok nem minden esetben fedik fel a kalibrációs hibákat és az eljárások hibáit, a készülék karbantartása után bekövetkező ugrásszerű változásokat (shifteket) és a készülékek hibáit. A független kontrollok használata minimalizálja az orvosi szempontból fontos hibákat. (BIO-RAD: Manage risk more efficiently with independent Quality Controls).

A platformfüggetlen kontrollok jellemzői:

- Többféle műszerre és módszerre vannak tervezve, ez költséghatékonyságot és időmegtakarítást is eredményez.
- A laboratóriumi vizsgálatok teljesítményét független módon és torzítatlanul ellenőrzik.

## **9.2. A laboratóriumok közötti adatkezelés**

Az internet egyedülálló lehetőséget nyújt a laboratóriumok számára az individuális QC adatok megosztásán keresztül nemzetközi csoportok képzésére, és az így nyert értékes információk hasznosítására egy adott analit és ahhoz kapcsolódó műszercsoportok esetén Internet-alapú táblázatok segítségével pl. a helyi Protrombin idő INR értékeket könnyen meg lehet határozni a „PT/INR LINE módszerrel (Poller et al, 2011). Nemzetközi laboratóriumi adatkezelő programok is vannak forgalomban, mint pl. a Randox cég „ACUSERA 24.7 Live Online”, a Roche TiQCon™ és a **BIO-RAD“Unity™” programja**, amely utóbbi jelenleg a világ legnagyobb nemzetközi laboratóriumi adatkezelő programja. Hasonló összehasonlító rendszereket már orvosi készülékekre is kifejlesztettek.

## **9.3. A BIO-RAD cég által nyújtott lehetőségek**

### 9.3.1. Platformfüggetlen kontrollok

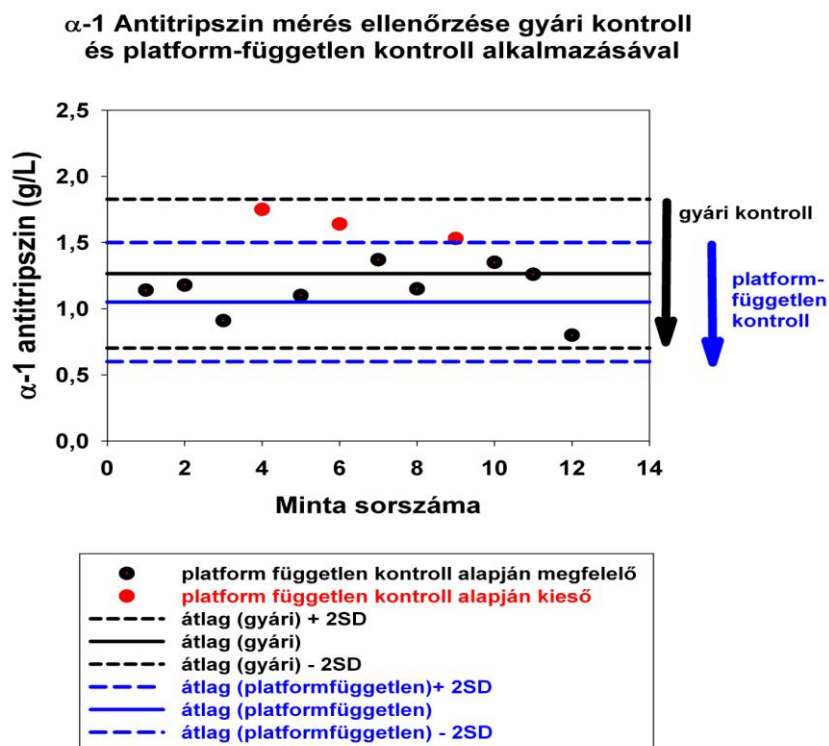
A BIO-RAD platformfüggetlen kontrollokat, a QC adatok hatékony kezelését biztosító szoftvert (“Unity QC Management Solutions”), külső minőség-ellenőrzési vizsgálatok szervezését és online hozzáférését (QCNet), továbbá a minőségbiztosítási elvek és az értékelést szolgáló statisztikai eszközök oktatását biztosítja a laboratóriumok számára.

**Platformfüggetlen multikontrollok:** A QC program változatlan fenntartása mellett kiváltják két vagy több egyedi kontroll alkalmazását.

A specifikus rendszerekhez optimalizált kontrollokkal szemben a Bio-Rad (Ampliecheck) független kontroll:

- csökkenti a pontatlan eredmény kiadásának kockázatát a teljes analitikai folyamat monitorozásával (5. ábra);
- detektálja a vizsgálati reagens lot-ok közötti változást; valamint
- hozzáférést biztosít a “Unity QC Management Solutions” programhoz, lehetővé téve a laboratóriumok számára azt, hogy valós időben (real time) összehasonlítsák eredményeiket egymással (with peers).





**5. ábra. Bio-Rad platformfüggetlen kontroll és gyári kontroll alkalmazása az  $\alpha$ -1 antitripszin nefelometriás meghatározása esetén**

A platformfüggetlen kontroll 3 olyan mérési adatot jelez a megengedett kontroll tartományon kívül, amely a gyári kontroll megengedett mérési tartományán belül van.

Ezek a BIO-RAD kontrollok sokirányú laboratóriumi területet fednek le; szérum és vizelet kémia, immunkémia (TDM, tumormarkerek, fertilitás, anyai szérum, anémia, magas vérnyomás markerek, endokrin, vizelet csontmarkerek), immunológiai fehérjék, szívmarkerek (troponinok, CK/LD izoenzimek, D-dimer, homocisztein), vérgáz, hemosztázis (koaguláció, D-dimer), diabétesz/hemoglobin, hematológia (hematológia, retikulocita, vérsüllyedés), terápiás gyógyszerszint monitorozás, toxikológia, fertőző betegségek, molekuláris kontrollok. Ezek a legáltalánosabbnak és legfontosabbnak mondható vizsgálatok, de nem teljeskörű a paletta. Hátránya, hogy nem minden laboratóriumi mérés (pl. a molekuláris biológián belül a „next generation sequencing”) található meg benne, de a „Unity™” szoftver széleskörű nemzetközi használata esetén feltehetőleg ezeknél a

vizsgálatoknál a más laboratóriumok által közzétett adatok segíthetik az adott laboratórium munkájának minőségi megítélését. Hangsúlyozandó továbbá, hogy a BIO-RAD más platformokhoz is biztosít kontrollokat és a minőségi kontroll adatok kezeléséhez támogatást (Siemens ADVIA kémia, Siemens ADVIA Centaur Immunoassay, Siemens Immulite Immunoassay platformokhoz), ily módon a kétféle minőségi kontroll termékekkel tovább erősíti ezen rendszerek megbízhatóságát és pontosságát.

**Lyphocheck® Specialty Immunoassay Control**, 3 szintű, manuális és automata módszerekhez  
**Liquichek Specialty Immunoassay Control**,

**Liquichek™ Immunoassay Premium Control:** A legtöbb integrált immunoassay platformhoz biztosít vizsgált értékeket. Összehozva az immunoassayket, a speciális immunoassayket a tumormarkerekkel és a TDM-mel a BIO-RAD által biztosított kontrollok hatékony utat biztosítanak a minőségbiztosítási terv megvalósításának maximális hatékonyságához.

**Liquid Assayed Multiqual® Premium Control:** kémia, immunológia, TDM és immunoassay vizsgálatokhoz.

### 9.3.2. Unity™ QC DATA Management Solutions Program

A BIO-RAD “Unity™ QC Data Management Solutions Program” szoftver az egész laboratóriumot egy QC rendszerben tömöríti. Ennek részei a minőség-ellenőrzési kontrollok, magába foglalja a legkiválóbb eszköztárat az eredmények kiadásához, a laboratórium teljesítményének ellenőrzéséhez és a QC program megtervezéséhez. Felhasználja a világszerte több mint 40 000 készüléken nyert adatokat (92 résztvevő ország, 10 ezer feletti laboratórium), real-time hozzáférést biztosít a csoporton belüli összehasonlításhoz, hogy segítse a probléma megoldást. Optimizált Westgard-szabályokat alkalmazva egyszerű eszközökkel segíti elő a parancsok teljesítését, hogy a szabályok megsértése és a korrigáló tevékenységek dokumentálása átlátható legyen. A program nemcsak a 6 alapvető Westgard-szabályt alkalmazza, hanem más laboratóriumi programoktól eltérően további alkalmazásokat is felhasznál egy analitikai mérési folyamat kiértékelésére. Jóllehet a Westgard-szabályokat a Levey-Jennings diagramokkal együtt manuálisan is lehet alkalmazni, de ez kevésbé hatékony, mint a szoftveres értékelés.

A programban definiálni lehet a saját minőségi követelményeket, és fel lehet tölteni benne a kulcs teljesítmény indikátorokat. Használatával hamarabb felismerhetővé válnak bizonyos változtatásokból eredő hibák (standardizálási változtatás, újabb kiserelésű reagensek és kalibrátorok, a készülékek szoftverjében történt változtatások). Az adott

laboratórium eredményeinek a külső laboratóriumok eredményeivel történő összevethetőségének gyakorlata elősegítheti a külső minőség-ellenőrzési programokban való sikeres szereplést, lehetőséget nyújt a nemzetközi visszajelzésre, illetve napi szinten rálátást nyújt a követelményekre. Ily módon több és folyamatosabb információt nyújt a laboratóriumoknak, mint egy körkontrollban történő részvétel.

Ez a Unity Data Management program a standard havi laboratóriumok közötti „Unity” kimutatások mellett kérésre képes ún. „InstantQC™” jelentést készíteni. Az „InstantQC™” segítségével egy adott laboratóriumban a kontrollok eredményei bármikor összevethetők más laboratóriumok kontrolljainak eredményével. A rövid turnaround time hozzásegít a tesztrendszer problémáinak gyors feltárásához. A havi riport átfogóbb, mint az InstantQC riport, és megkívánja a laboratóriumoktól az eredmények beküldését ahhoz, hogy szabályos periódusokban biztosítani tudja egy tesztrendszerrel a csoportok maximális méretét.

A rendelkezésre álló riportok a következők:

- havi értékelés
- áttekintő laboratóriumi teljesítmény-értékelés
- laboratóriumi összehasonlító riport
- laboratóriumi hisztogram
- torzítás (bias) és pontatlansági (unprecision) hisztogram
- világméretű riport
- statisztikai profil
- beolvasztott/kapcsolódó (affiliated) laboratóriumi összehasonlító riport
- beolvasztott/kapcsolódó (affiliated) laboratóriumi összehasonlító riport – rövidített összegzés
- beolvasztott/kapcsolódó (affiliated) kifogásolt/kieső értékek riportja
- vizeletanalízis riport

A szoftvert nem szükséges számítógépre telepíteni, internetes felületen elérhető, a QC adatok a laboratóriumi informatikai rendszerből vagy a készülékekről közvetlenül átirányíthatók a Unity Real Time online vagy UnityWeb programba. A Unity Real Time program számítógépes asztali felhasználásra alkalmas.

Amennyiben a BIO-RAD által forgalmazott kontroll értéke egy adott készüléktípusra nincs megadva a katalógusban, ezt térítésmentesen bemérik. Lehetőség van a BIO-RAD kontrolljaitól eltérő, más forgalmazó kontrolljainak használata esetén is olyan külső

laboratóriumok eredményeivel való összevetésre, amelyek ugyanazt a kontrollt használják egy adott vizsgálat során, mint a kérdéses laboratórium. Ez szintén hasznos lehet, jóllehet, az így képződő csoportokban a résztvevők száma alacsonyabb.

A kiterjedt minőségi kontroll rendszert használó laboratóriumok számára fontos a helyes QC szabályok és optimális ellenőrzési gyakoriságok megállapítása, az inkorrekt betegeredmények kockázatának becslése. A „**BIO-RAD Mission Control**” segít a laboratórium kockázatkezelési indexének (Risk Management Index – RMI) objektív megállapításában, a teszt módszerek teljesítményének kiértékelésében. A QC adatok ismeretében meghatározza az inkorrekt betegeredmények valószínűségének mértékét, a készülékek teljesítménye alapján megvizsgálja, hogy milyen módon csökkentheti a kockázatot, a szabályokat és gyakoriságot meghatározva a kockázati toleranciához illeszkedő QC tervet készít.

### 9.3.3. Külső minőség-ellenőrző programok

A **BIO-RAD EQAS külső minőség-ellenőrző programok** szervezésével támogatja laboratóriumok minőségbiztosítási céljainak megvalósítását (2. táblázat és 6. ábra). Biztonságos internetes felületen ([www.qcnet.com](http://www.qcnet.com)) beküldhetők az eredmények, elérhetőek a kiértékelések, a képzési segédanyagok és irodalom.

**2. táblázat. A BIO-RAD külső minőség-ellenőrző programjai**

**a**

<b>KLINIKAI KÉMIA</b>	<b>IMMUNOASSAY</b>	<b>IMMUNOASSAY</b>
Alanin-aminotranszferáz (ALT/SGPT)	11-Deoxikortizol	NSE
Albumin	17- $\alpha$ -OH-Progeszteron	Ösztradiol
Alkalikus foszfatáz (ALP)	25-OH Vitamin D	Plazmarenin aktivitása
Amiláz (összes)	ACE	Progeszteron
Aspartát aminotranszferáz (AST/SGOT)	ACTH	Prolaktin
Bilirubin (direkt)	Aldoszteron	PSA (összes)
Bilirubin (összes)	Alfafetoprotein (AFP)	PSA (szabad)
Cink	Androsztendion	PSA (szabad/összes arány)
Foszfor	C-Peptide	Renin
Gamma-glutamil transzferáz (GGT)	CA 125	S100 Protein
Laktát (tejsav)	CA 15-3	Szexhormont megkötő globulin (SHBG)
Laktát dehidrogenáz (LDH)	CA 19-9	T-felvétel
Lipáz	CA 27.29	T3-felvétel
Lítium	Karcioembrionális antigén (CEA)	Teofilin
Magnézium	DHEA	Tesztoszteron
Nátrium	DHEA szulfát	Tireoidea stimuláló stimuláló hormon (TSH)
Ozmolalitás	Digoxin	Tiroid megkötő globulin (TBG)
Protein (összes)	Esztriol, szabad (UE <sub>3</sub> )	Tiroxin (T4) összes
Réz	Fenitoin	Tiroxin, szabad (FT <sub>4</sub> )
Széndioxid (CO <sub>2</sub> )	Fenobarbitál	Transzferrin
Tireoidea stimuláló hormon (TSH)	Ferritin	Trijód-tironin (T3), összes
Tiroxin (FT <sub>3</sub> ) szabad	Follikulus stimuláló hormon (FSH)	Trijód-tironin, szabad (FT <sub>3</sub> )
Tiroxin (T4) összes	Folsav	Valpronsav
Trigliceridek	Gasztrin	Vitamin B <sub>12</sub>
Trijód-tironin (FT <sub>3</sub> ) szabad	hCG	B-2 Mikroglobulin
Trijód-tironin (T3) összes	hGH	Pilot analit
Urea	Immunoglobulin E (IgE)	Tireoglobulin (Tg)
Urea nitrogén	Intakt PTH	
Vas	Inzulin	
Vaskötő kapacitás, szaturátatlan (UBC)	Karbamazepin	
Vaskötő kapacitás, összes (TBC)	Kortizol	
Savas foszfatáz (összes)	LH	
<b>ETANOL/AMMÓNIA</b>		
Ammónia		
Etanol		

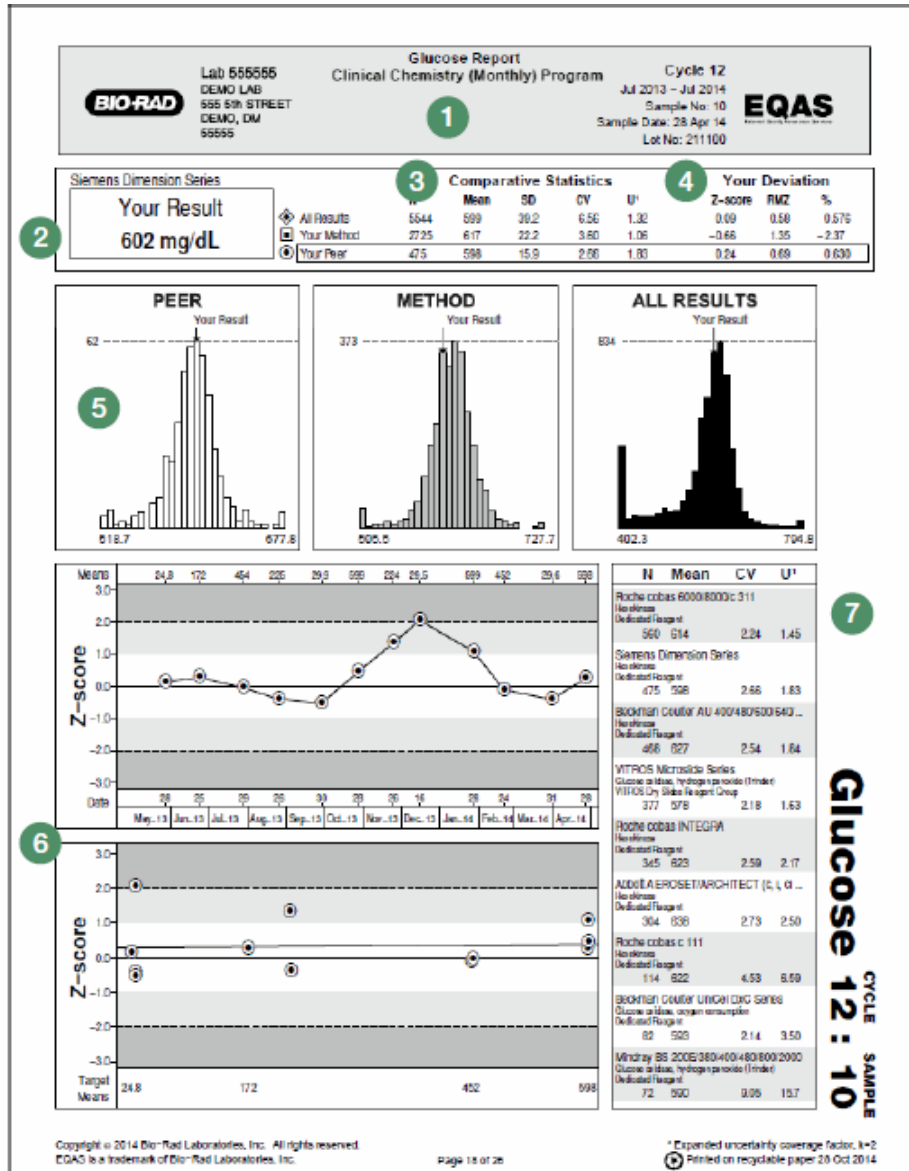
**b**

<b>SZÉRUMPROTEIN</b>	<b>TDM</b>	<b>VIZELETELEMZÉS</b>	<b>VIZELET KÉMIA</b>
$\alpha$ -1 Antitripszin	Acetaminofen	Albumin	5-Hidroxi-indolecetsav (5-HAA)
$\alpha$ -1 savanyú glikoprotein	Amikacin	Albumin-Kreatinin arány	Aldoszteron
$\alpha$ -2 Makroglobulin	Amitriptin	Bilirubin	Dopamin
B-2 Mikroglobulin	Ciklosporin	Fajsúly	Epinefrin
Albumin	Digoxin	Glükóz	Foszfor
Antisztreptolizin O (ASO)	Etoszucimid	Ketonok	Glükóz
C-reaktív protein (CRP)	Fenitoin	Kreatinin	Hidroxiprolin (összes)
Ceruloplazmin	Fenobarbitál	Leukociták	Homovanilinsav (HVA)
Haptoglobin	Gentamicin	Nitrit	Húgysav
Immunoglobulin A (IgA)	Karbamazepin	pH	Kalcium (összes)
Immunoglobulin E (IgE)	Koffein	Protein (összes)	Kálium
Immunoglobulin G (IgG)	Lítium	Protein-Kreatinin arány	Klorid
Immunoglobulin M (IgM)	Metotrexát	Terhesség (hCG)	Kortizol (szabad)
Kappa könnyűlánc	Nortriptin	Urobilinogén	Kreatinin
Komplement C3	Primidon	Vér/Hemoglobin	Magnézium
Komplement C4	Szalicilát		Mikroalbumin
Lambda könnyűlánc	Teofillin		Nátrium
Prealbumin	Tobramicin		Norepinefrin
Protein (Összes)	Triciklusos anti-depresszánsok		Normetanefrin
Rheumatoid faktor (Rf)	Valproinsav		Ozmolalitás
Transzferrin	Vankomicin		Protein (összes)
			Urea nitrogén
			Vanilin-mandulasav (VMA)

c

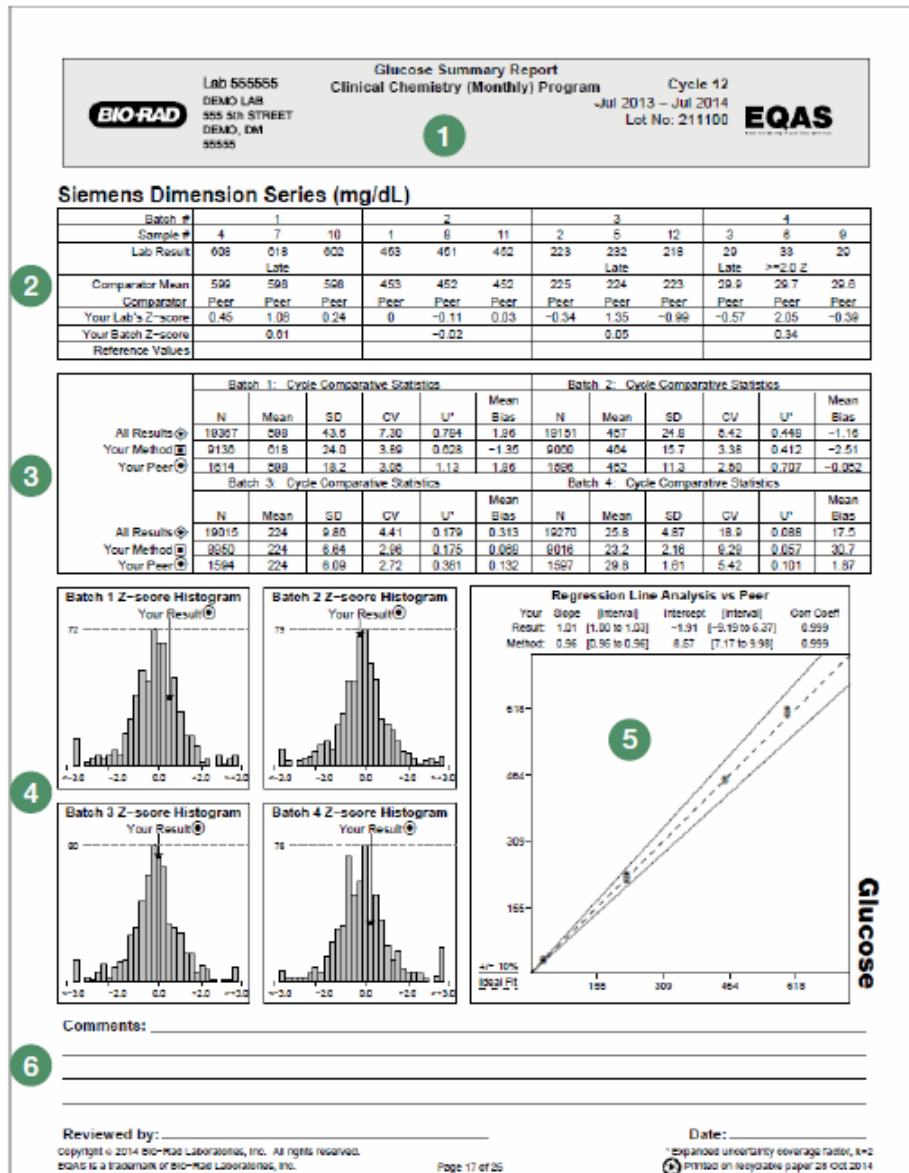
VÉRGAZ	LIPID	SZÍV-MARKEREK	KOAGULÁCIÓ	HEMATOLÓGIA	HEMOGLOBIN
glükóz	Apolipo-protein A-1	BNP	Antitrombin III (ATIII)	Átlagos hemoglobin koncentráció (MCV)	Hemoglobin A1c
kalcium	Apolipo-protein B	CK-MB	APTT	Fehérvérsejtek (WBC)	Hemoglobin A2
klorid	Koleszterin (HDL)	D-dimer	D-dimer	Hematokrit (HCT)	Hemoglobin (Összes glikohemoglobin)
kálium	Koleszterin (LDL)	Homo-cisztein	Fibrinogén	Hemoglobin	
laktát	Koleszterin (összes)	Hs-CRP	INR	Trombocita (PLT)	
magnézium	Lipoprotein (a)	Mioglobin	Protein C	Vérlemezkék átlagos nagysága (MPV)	
pCO <sub>2</sub>	Trigliceridek	NT-proBNP	Protein S	Vörösvérsejt (RBC)	
pH	Pilot Analit	Troponin I	PT	Vörösvérsejtek szélességének az eloszlása (RDW)	
pO <sub>2</sub>	Kolezterin (nem+HDL)	Troponin T	Trombin idő (TT)	Vörösvérsejtek szélességének az eloszlása+SD (RDW-SD)	
				Vörösvérttest átlag (MCH)	
				Vörösvérttestek átlagos hemoglobin koncentrációja (MCHC)	

a





b



**6. ábra. Egyedi (a) és cikluszáró (b) kvantitatív analít riport a BIO-RAD QC Net programban**

Az egyedi kvantitatív analít riport tartalma:

1. Laboratórium száma, riport neve, EQAS program neve, ciklus száma, dátuma, lotszáma, minta száma és beküldési határidő
2. Laboratórium eredménye (Unit, átlag, SD). „Peer group” (csoporton belüli) összehasonlítás
3. Összehasonlítási statisztika: beküldők száma, mérések átlaga, SD, CV, az átlag kiterjesztett bizonytalansága (extended uncertainty/U), 3 szintű összehasonlítás: csoporton belüli, módszerek közötti összehasonlítás és minden eredmény (vagy Mode)
4. A laboratórium eltérése: Z-score, RMZ és a háromféle összehasonlítás %-os eltérései
5. Hisztogrammok: csoport, módszer és minden mérés (vagy Mode) 5 SD tartományig; saját eredmény nyíllal jelölve
6. Z-score Trend diagramm -3Z +3Z tartományban ábrázolva: A A Lewey-Jennings és Yound Plot vizuálisan láthatóvá teszi, hogyan működik egy teszt. Optimális eredmény a zero vonalnál van.

## 7. A legnagyobb csoport eredményének összegzése

A cikluszáró kvantitatív analit riport (Analyte Summary Report) tartalma:

1. Laboratórium száma, riport neve, EQAS program neve, ciklus száma, dátuma, lotszáma, minta száma és beküldési határidő
2. Analit összegzés
3. Ciklus összehasonlító statisztika „batch”-enként
4. „Batch” Z-score gyakorisági hisztogrammok
5. Regressziós egyenes analízis
6. Megjegyzések

A ciklus zárásakor az „Analyte Summary Report”-on kívül „Cycle data on file Report” és „Mean Z-score Report” is készül. (forrás: BIO-RAD EQAS PROGRAMME USER GUIDE: <http://www.qcnet.com>)

A megjelölt forrásdokumentumban a kvalitatív értékelésre vonatkozó útmutató is megtalálható.

## 10. Összefoglalás

Az orvosi laboratóriumok esetében a minőségre és felkészültségre vonatkozó követelményeket az ISO 15189:2012 szabvány fogalmazza meg. A laboratóriumi diagnosztika standardizációs és harmonizációs törekvései jelentősen segítik a laboratóriumokat a minőségcéljaik elérésében, fokozva ezzel a betegbiztonságot. E folyamathoz járulnak hozzá a platformfüggetlen kontrollok, amelyek mellett, hogy költségkímélőbbek, sokkal érzékenyebbek is a mérőmódszerek és a készülékek hibáira, ezáltal az analitikai folyamatok nemmegfelelőségére, mint a reagens- vagy a készülék-gyártók saját kontrolljai. A nemzetközi laboratóriumi adatkezelő programok a rendszeres kontrollmérések eredményeit felhasználva lehetővé teszik egyrészt az analitikai folyamatok megfelelőségének szoftveres értékelését a laboratóriumon belül, másrészt az adott laboratórium eredményeit rendszeresen összehasonlítják más laboratóriumok eredményeivel – biztosítva ezáltal az analitikai hibák gyors és hatékony felismerését, megfelelő dokumentálását, és támogatják a külső minőség-ellenőrző programokban való sikeres részvételt.

A BIO-RAD cég platformfüggetlen kontrolljai, a “Unity™ QC Data Management Solutions Program” szoftver és a külső minőség-ellenőrző programok utat nyitnak a laboratóriumok minőség-ellenőrzési folyamatainak egyszerűbbé, költséghatékonyabbá válásához és a különböző laboratóriumok teljesítményének összehasonlításához.

## 11. Irodalom

13/2010 (III.31.) EüM rendelet. Az egészségügyi szolgáltatások nyújtásához szükséges szakmai minimumfeltételekről szóló 60/2003 (X.20.) ESzCsM rendelet és az egészségügyi szolgáltatások nyújtásához szükséges szakmai minimumfeltételekről szóló 60/2003 (X.20.) ESzCsM rendelet módosításáról szóló 48/2009 (XII.29.) EüM rendelet módosításáról

Adaway JE, Keevil BG, Therapeutic drug monitoring and LC-MS/MS, *J. Chromatogr. B Analyt Technol Biomed Life Sci.*883–884:33–49 (2012)

Agrawal YP, Cid M, Westgard S, Parker TS, Jaikaran R, Levine DM. Transplant patient classification and tacrolimus assays: More evidence of the need for assay standardization. *Ther. Drug Monit.* 36:706-709 (2014)

Armbruster DA, Pry T. Limit of blank, limit of detection and limit of quantitation. *Clin Biochem Rev. Suppl* 1:S49-52 (2008)

Aranda JV, Beharry K, Valencia GB, Natarajan G, Davis J. Caffeine impact on neonatal morbidities. *J Matern Fetal Neonatal Med Suppl.* 3: 20-23 (2010)

Annesley TM, McKeown DA, Holt DW, Mussell C, Champamaud E, Harter L, Calton LJ, Maison DS. Standardization of LC-MS for therapeutic drug monitoring of tacrolimus. *Clin. Chem.* 59:1630-1637 (2013)

Apple FS. Clinical and analytical standardization issues confronting cardiac troponin I. *Clin. Chem* 45:18-20 (1999)

Apple FS. Standardization of cardiac markers. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 240:107-111 (2005)

Apple FS, Jesse RL, Newby LK, Wu AH, Christenson RH, Cannon CP, Francis G, Morrow DA, Ravkilde J, Storrow AB, Tang W; IFCC Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage, Jaffe AS, Mair J, Ordonez-Llanos J, Pagani F, Panteghini M, Tate J; National Academy of Clinical Biochemistry. National Academy of Clinical Biochemistry and IFCC Committee for Standardization of Markers of Cardiac Damage Laboratory Medicine Practice Guidelines: analytical issues for biochemical markers of acute coronary syndromes. *Clin Chem.*53:547-551 (2007)

Aranda JV, Beharry K, Rex RJ, Johannes RJ, Charest-Boule I. Caffeine enzyme immunoassay in neonatal and pediatric drug monitoring. *Ther Drug Monit* 9:97-103 (1987)

Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) Akut ve Kronik Kalp Yetersizliği Tani ve Tedavisi 2012 Görev Grubu; ESC Turk Kardiyol Dern Ars. 40 Suppl 3:77-137 (2012)

Becker S, Thiery J, Ceglarek U. Evaluation of a novel commercial assay for the determination of cyclosporine A, tacrolimus, sirolimus, and everolimus by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometric assay. *Ther. Drug Monit.* 35:129-132 (2013)

Berger P., Laphorn A Standardization of epitopes for human chorionic gonadotropin (hCG) immunoassays. *Curr. Med. Chem.* 23:3481-3494 (2016)

BIO-RAD EQAS PROGRAMME USER GUIDE (<http://www.qcnet.com>)

Budd JR, Weykamp C, Raj R, Mackenzie F, Ceriotti F, Greenberg N, Camara JE, Schimmel H, Vesper HW, Keller T, Delatour V, Panteghini M, Burns C, Miller G for the Working Group on Commutability. IFCC

Working Group Recommendations for assessing commutability Part 3: Using the calibration effectiveness of a reference material. *Clin. Chem.* 64:3 (2018)

Buoro S, Da Rin G, Fanelli A, Lippi G. Harmonization of interpretative comments in laboratory hematology reporting: the recommendations of Working Group on Diagnostic Hematology of the Italian Society of Clinical Chemistry and Clinical Molecular Biology (WGDH-SIBioC). *Clin Chem Lab Med.* 2018 pii: /j/cclm.ahead-of-print/cclm-2017-0972/cclm-2017-0972.xml.

Brereton M, McCafferty R, Marsden K, Kawai Y, Etzell J, Ermens A; international council for standardization in haematology. Recommendation for standardization of haematology reporting units used in the extended blood count. *Int J Lab Hematol.* 38:472-482 (2016)

Cardoso E, Mercier T, Wagner AD, Homicsko K, Michielin O, Ellefsen-Lavoie K, Cagnon L, Diezi M, Buclin T, Widmer N, Csajka C, Decosterd L. Quantification of the next-generation oral anti-tumor drugs dabrafenib, trametinib, vemurafenib, cobimetinib, pazopanib, regorafenib and two metabolites in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 1083:124-136 (2018)

Carobene A, Guerra E, Ceriotti F. A mechanism-based way to evaluate commutability of control materials for enzymatic measurements. The example of gamma-glutamyltransferase. *Clin Chim Acta.* 424:153-8 (2013)  
Ceriotti F., Hinzmann R, Panteghini M. Reference intervals: the way forward. *Ann. Clin. Biochem.* 46:8-17 (2006)

Cattozzo G, Guerra E, Ceriotti F, Franzini C; Enzyme Working Group of the Italian Society of Clinical Biochemistry and Clinical Molecular Biology (SIBioC). Commutable calibrator with value assigned by the IFCC reference procedure to harmonize serum lactate dehydrogenase activity results measured by 2 different methods. *Clin Chem.* 54:1349-1355 (2008)

Chacko S, Haseeb S, Glover BM, Wallbridge D, Harper A. The role of biomarkers in the diagnosis of acute coronary syndrome. *Future Sci. OA* 4(1), FS0251 (2018)

Chan EK, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, de Melo Cruvinel W, Francescantonio PL, Fritzler MJ, Garcia-De La Torre I, Herold M, Mimori T, Satoh M, von Mühlen CA, Andrade LE. Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns 2014-2015. *Front Immunol.* 6:412 (2015)

Christenson RH, Vaidya H, Landt Y, Bauer RS, Green SF, Apple FA, Jacob A, Magnuson GR, Nag S, Wu AH, Azzazy HM. Standardization of creatine kinase –MB (CK-MB) mass assays: the use of recombinant CK-MB as a reference material. *Clin.Chem.* 45: 1414-143 (1999)

Christenson RH, Duh SH, Apple FS, Bodor G, Bunk DM, Dalluge J, Panteghini M, Potter JD, Welch MJ, Wu AH, Kahn SE. Standardization of cardiac troponin I assays: round robin of ten candidate reference materials. *Clin. Chem.* 47: 431-437 (2001)

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Procedures for Validation of INR and Local Calibration of PT/INR Systems. CLSI document H54-A. Wayne, PA: CLSI (2005)

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Protocol for the Evaluation, Validation and implementation of coagulometers. CLSI document H57-P. Wayne, PA: CLSI (2008)

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: CLSI (2012)

Dahmane E, Mercier T, Zanolari B, Cruchon S, Guignard N, Buclin T, Leyvraz S, Zaman K, Csajka C, Decosterd LA. An ultra performance liquid chromatography-tandem MS assay for tamoxifen metabolites profiling in plasma: first evidence of 4'-hydroxylated metabolites in breast cancer patients. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 878:3402-14 (2010)

Dati F, Panteghini M, Apple FS, Christenson RH, Mair J, Wu AH. Proposals from the IFCC Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage (C-SMCD): strategies and concepts on standardization of cardiac marker assays. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* (1999)

Dasgupta A, Wahed A. *Clinical Chemistry, Immunology and Laboratory Quality Control. A Comprehensive Review for Board Preparation, Certification and Clinical Practice.* eBook ISBN: 9780124079359 Hardcover ISBN: 9780124078215, Elsevier, 2014. Chapter 2. Immunoassay Platform and Designs 19-34 (Dasgupta A et al, 2014a)

Dasgupta A, Wahed A. *Clinical Chemistry, Immunology and Laboratory Quality Control. A Comprehensive Review for Board Preparation, Certification and Clinical Practice.* eBook ISBN: 9780124079359 Hardcover ISBN: 9780124078215, Elsevier, 2014. Chapter 8. Cardiac markers 127-143 (Dasgupta A et al, 2014b)

Dasgupta A, Wahed A. *Clinical Chemistry, Immunology and Laboratory Quality Control. A Comprehensive Review for Board Preparation, Certification and Clinical Practice.* eBook ISBN: 9780124079359 Hardcover ISBN: 9780124078215, Elsevier, 2014. Chapter 14 Therapeutic Drug Monitoring 249-271 (Dasgupta A et al, 2014c)

Dasgupta A, Wahed A. *Clinical Chemistry, Immunology and Laboratory Quality Control. A Comprehensive Review for Board Preparation, Certification and Clinical Practice.* eBook ISBN: 9780124079359 Hardcover ISBN: 9780124078215, Elsevier, 2014. Chapter 15 Interferences in Therapeutic Drug Monitoring 276-287 (Dasgupta A et al, 2014d)

Decosterd LA, Widmer N, Zaman K, Cardoso E, Buclin T, Csajka C. Therapeutic drug monitoring of targeted anticancer therapies. *Biomark Med.* 9:887-893 (2015)

Derissen EJ, Hillebrand MJ, Rosing H, Schellens JH, Beijnen JH. Development of an LC-MS/MS assay for the quantitative determination of the intracellular 5-fluorouracil nucleotides responsible for the anticancer effect of 5-fluorouracil. *J Pharm Biomed Anal.* 110:58-66 (2015)

Dupouey J, Doudka N, Belo S, Blin O, Guilhaumou R. Simultaneous determination of four antiepileptic drugs in human plasma samples using an ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method and its application in therapeutic drug monitoring. *Biomed Chromatogr.* 30:2053-2060 (2016)

Dybkaer R. From total allowable error via metrological traceability to uncertainty of measurement of the unbiased results. *Accred Qual Assur* 4:401-405 (1999)

English E, Lenters-Westra E. HbA1c method performance: The great success story of global standardization. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 5:408-419 (2018)

EurA1c Trial Group. EurA1c: The European HbA1c Trial to investigate the performance of HbA1c assays in 2166 laboratories across 17 countries and 24 manufacturers by use of the IFCC model for quality targets. *Clin. Chem.* 64:1183-1192 (2018)

Favaloro EJ, McVicker W, Lay M, Ahuja M, Zhang Y, Hamdam S, Hocker N. Harmonizing the International Normalized Ratio (INR): Standardization of Methods and Use of Novel Strategies to Reduce Interlaboratory Variation and Bias. *Am J Clin Pathol.* 145:191-202 (2016)

- Favarolo EJ. Optimizing the verification of mean normal Prothrombin Time (MNPT) and International Sensitivity Index (ISI) for accurate conversion of Prothrombin Time (PT) to International Normalized Ratio. *Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology* vol. 1646 DOI 10, 1007/978-1-4939-7198-1\_4. Eds. Favarolo EJ and Lippi G. Springer Science-Business Media LLC 2017
- Favaloro EJ, Gosselin R, Olson J, Jennings I, Lippi G. Recent initiatives in harmonization of hemostasis practice. *Clin Chem Lab Med*. 56:1608-1619 (2018)
- Fraser CG. Reference change values. *Clin Chem Lab Med*. 50: 807-815 (2002)
- Ferraro S, Braga F, Panteghini M. Laboratory medicine in the new healthcare environment. *Clin Chem Lab Med* 54:523-33 (2016)
- Fiaturi N, Greenblatt DJ. Therapeutic Drug Monitoring of Antidepressants. *Handb Exp Pharmacol*. 2018 Sep 8. doi: 10.1007/164\_2018\_161.
- Filler G, Smith N. The need for tacrolimus assay standardization. *Ther. Drug Monit*. 36:693-695 (2014)
- Green SF. The cost of poor blood specimen quality and errors in preanalytical processes. *Clin Biochem* 46: 1175-1179 (2013).
- Font P, Loscertales J, Soto C, Ricard P, Novas CM, Martín-Clavero E, López-Rubio M, Garcia-Alonso L, Callejas M, Bermejo A, Benavente C, Ballesteros M, Cedena T, Calbacho M, Urbina R, Villarrubia J, Gil S, Bellón JM, Díez-Martín JL, Villegas A. Interobserver variance in myelodysplastic syndromes with less than 5 % bonemarrowblasts: unilineage vs. multilineage dysplasia and reproducibility of the threshold of 2 % blasts. *Ann Hematol*. 94:565-73 (2015)
- Fornasaro S, Bonifacio A, Marangon E, Buzzo M, Toffoli G, Rindzevicius T, Schmidt MS, Sergo V. Label-Free Quantification of Anticancer Drug Imatinib in Human Plasma with Surface Enhanced Raman Spectroscopy. *Anal Chem*. 90:12670-12677 (2018)
- Gosselin RC, Adcock DM, Bates SM, Douxfils J, Favaloro EJ, Gouin-Thibault I, Guillermo C, Kawai Y, Lindhoff-Last E, Kitchen S. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) Recommendations for Laboratory Measurement of Direct Oral Anticoagulants. *Thromb Haemost*. 118:437-450 (2018)
- Gotta V, Widmer N, Decosterd LA, Chalandon Y, Heim D, Gregor M, Benz R, Leoncini-Francini L, Baerlocher GM, Duchosal MA, Csajka C, Buclin T. Clinical usefulness of therapeutic concentration monitoring for imatinib dosage individualization: results from a randomized controlled trial. *Cancer Chemother Pharmacol*. 74:1307-19 (2014)
- Hanas R, John G. 2010 consensus statement on the worldwide standardization of the haemoglobin A1c measurement. *Diabet. Med*. 27:737-738 (2010)
- Hanas R, John WG; International HbA1c Consensus Committee. 2013 Update on the worldwide standardization of the hemoglobin A1c measurement. *Pediatr Diabetes*. 15:e1-2. (2014)
- Haouala A, Zanolari B, Rochat B, Montemurro M, Zaman K, Duchosal MA, Ris HB, Leyvraz S, Widmer N, Decosterd LA. Therapeutic Drug Monitoring of the new targeted anticancer agents imatinib, nilotinib, dasatinib, sunitinib, sorafenib and lapatinib by LC tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 877:1982-96 (2009)

- Hoelzel W, Weykamp C, Jeppsson JO, Miedema K, Barr JR, Goodall I, Hoshino T, John WG, Kobold U, Little R, Mosca A, Mauri P, Paroni R, Susanto F, Takei I. IFCC reference system for measurement of hemoglobin A1c in human blood and the national standardization schemes in the United States, Japan, and Sweden: a method-comparison study. *Clin. Chem.* 50:166-174 (2004)
- Hoskins JM, Gross AS, Shenfield GM, Rivory LP. High-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry method for the measurement of moclobemide and two metabolites in plasma. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 2001 754:319-26 (2001)
- Hubbard AR, Heath AB. Standardization of factor VIII and von Willebrand factor in plasma calibration of the WHO 5th International Standard (02/150). *Thromb. Hemost.* 2: 1380-1384 (2004)
- Hubbard AR. International biological standards for coagulation factors and inhibitors. *Semin. Thromb. Hemost.* 33: 283-289 (2007)
- Hytest. Single Epitope Sandwich assay for BNP – SES-BNP™. <https://www.hytest.fi/resources/product-info/single-epitope-sandwich-assay-for-bnp-ses-bnp>
- Infusino I, Schumann G, Ceriotti F and Panteghini M. Standardization in clinical enzymology: a challenge for the theory of metrological traceability. *Clin Chem Lab Med* 48:301–307 (2010)
- Infusino I, Fruscicante E, Braga F, Panteghini M. Progress and impact of enzyme measurement standardization. *Clin. Chem. Lab. Med.* 28:155-161 (2016)
- ISO 18153:2003: In vitro diagnostic medical devices – Measurement of quantities in biological samples – Metrological traceability of values for catalytic concentration of enzymes assigned to calibrators and control materials. ISO, Geneva, Switzerland
- ISO/IEC Guide 98:1995. Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM). International Organization for Standardization: Geneva, 1995.
- ISO 15189:2012. Medical laboratories – Requirements for quality and competence. CEN, Brussels, Belgium, 2012.
- Jannetto PJ, Bratanow NC. Utilization of pharmacogenomics and therapeutic drug monitoring for opioid pain management. *Pharmacogenomics.* 10:1157-67 (2009)
- Jiratham-Opas J, Kanjanavanit R, Wongcharoen W, Punyawudho B, Arunmanakul P, Amaritakomol A, Topaiboon P, Gunaparn S, Phrommintikul A. Can available mathematical models predict serum digoxin levels in Thai patients? *J Clin Pharm Ther.* 43:377-384. (2018)
- Kalp Yetersizliği Birliğinin İşbirliğiyle hazırlanmıştır; Heart Failure Association. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Türk Kardiyol Dern Ars. Suppl* 3:77-137 (2012)
- Kobold U, Jeppsson JO, Duffler T, Finke A, Hoelzel W, Miedema K. Candidate reference methods for haemoglobin A1c based on epitope mapping. *Clin Chem* 43:1944-1951 (1997)
- Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. *Clin Chem Lab Med.* 44:358-365 (2006)
- Little TA. Method validation essentials, limit of blank, limit of detection, and limit of quantitation. *BioPharm International.* 28(4) (2015)



Lopez-Sanchez RDC, Lara-Diaz VJ, Aranda-Gutierrez A, Martinez-Cardona JA, Hernandez HPLC Method for Quantification of Caffeine and Its Three Major Metabolites in Human Plasma Using Fetal Bovine Serum Matrix to Evaluate Prenatal Drug Exposure. *J Anal Methods Chem.* 2018:2085059 (2018)

Lucha S, Taibon J, Pongratz S, Geletneky C, Huber E, Wintterle-Roehm C, Lang R, Grimm SH, Duelffer T, Tarasov K, Zander J, Vogeser M, Kobold U. An LC-MS/MS based candidate reference method for the quantification of total gentamicin in human serum and plasma using NMR characterized calibrator material. *Clin Chim Acta* 464:211-217 (2017)

Luckenbill K.N., Christenson R.H., Jaffe A.S., Mair J, Ordonez-Llanos J., Pagani F., et al., Cross-reactivity of bnp, nt-probnp, and probnp in commercial bnp and nt-probnp assays: preliminary observations from the ifcc committee for standardization of markers of cardiac damage, *Clin. Chem.* 54:619–621 (2008)

Marlar RA, Gausmann JN, Engel J., Validation of hemostasis and coagulation assays: recommendations and guidelines. *Semin. Thromb. Hemost.* 40:186-194 (2014)

Matsuda A, Kawabata H, Tohyama K, Maeda T, Araseki K, Hata T, Suzuki T, Kayano H, Shimbo K, Usuki K, Chiba S, Ishikawa T, Arima N, Nohgawa M, Ohta A, Miyazaki Y, Nakao S, Ozawa K, Arai S, Kurokawa M, Mitani K, Takaori-Kondo A; Japanese National Research Group on Idiopathic Bone Marrow Failure Syndromes. Interobserver concordance of assessments of dysplasia and blastcounts for the diagnosis of patients with cytopenia: From the Japanese central review study. *LeukRes.* 74:137-143 (2018)

McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, Dickstein K, Falk V, Filippatos G, Fonseca C, Gomez-Sanchez MA, Jaarsma T, Kober L, Lip GY, Maggioni AP, Parkhomenko A, Pieske BM, Popescu BA, Ronnevik K, Rutten FH, Schwitter J, Seferovic P, Stepinska J, Trindade PT, Voors AA, Zannad Falez, Zeiher A; Miller WG, Myers GL, Rej R. Why commutability matters. *Clin. Chem.* 52:533-534 (2006)

Menditto A, Patriarca M, Magnusson B. Understanding the meaning of accuracy, trueness and precision. *Accred Qual Assur.* 12:45-47 (2006)

Meroni PL, Biggioggero M, Pierangeli SS, Sheldan J, Zegers I, Borghi MC. Standardization of autoantibody testing: a paradigm for serology in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 10:35-43 (2014)

Miller WG, Myers GL, Rej R. Why commutability matters. *Clin. Chem.* 52:533-534 (2006)

Miller WG, Schimmel H, Rej R, Greenberg N, Ceriotti F, Burns C, Budd JR, Weykamp C, Delatour V, Nilsson G, MacKenzie F, Panteghini M, Keller T, Camara JE, Zegers I, Vesper HW; IFCC Working Group on Commutability. IFCC Working Group Recommendations for Assessing Commutability Part 1: General Experimental Design. *Clin Chem.* 64:447-454 (2018)

Morishige H, Shuto H, Ieiri I, Otsubo K, Oishi R. Instability of standard calibrators may be involved in overestimating vancomycin concentrations determined by fluorescence polarization immunoassay. *Ther Drug Monit.* 18:80-85 (1996)

Morris RG, Jones TE, Goldsworthy SJ, Wagner TJ, Ho H, Horowitz JD. Suspected DLIS interference in the dimension DGNA digoxin assay method and the clinical application of the revised digoxin target range. *Ther Drug Monit.* 28:454-457 (2006)

Morshed SA, Davies TF, Graves' disease mechanisms: the role of stimulating, blocking, and cleavage region TSH receptor antibodies. *Horm. Metab Res.* 47:880-888 (2015)

Mosca A, Paleari R. Sources and performance criteria of uncertainty of reference measurement procedures. *Clin Biochem.* 57:29-36 (2018)

Nafziger AN, Bertino JS. Utility and application of urine drug testing in chronic pain management with opioids. *Clin J Pain* 25:73-79 (2009)

Neeves KB, Mccarty OJT, Rininger AJ, Sugimoto M, Kino MR, for the Biorheology Subcommittee of the SSC of the ISTH. Flow-dependent thrombin and fibrin generation *in vitro*: opportunities for standardization : communication from SSC of the ISTH. *J. Thromb. Haemost.* 12:418-420 (2013)

Nilsson G, Budd JR, Greenberg N, Delatour V, Rej R, Panteghini M, Ceriotti F, Schimmel H, Weykamp C, Keller T, Camara JE, Burns C, Vesper HW, MacKenzie F, Miller WG; IFCC Working Group on Commutability. IFCC Working Group Recommendations for Assessing Commutability Part 2: Using the Difference in Bias between a Reference Material and Clinical Samples. *Clin Chem.* 64:455-464 (2018)

Nunes LAS, Brenzikofer R, Vaz de Macedo D. Reference change values of blood analytes from physically active subjects. *Eur J Appl Physiol* 110:191-198 (2010)

Olson ID, Brandt JT, Chandler WL, Van Cott EM, Cunningham MT, Hayes TE, Kottke-Marchant KK, Makar RS, Uy AB, Wang EC. Laboratory reporting of the international normalized ratio: progress and problems. *Arch. Path. Lab. Med.* 131:1641-1647 (2007)

Orrico KB, Wu M, Wilson AR. Assessment of the appropriateness of serum digoxin concentration measurement in a medical group setting. *J Manag Care Pharm.* 17:695-700 (2011).

Palmer L, Briggs C, McFadden S, Zini G, Burthem J, Rozenberg G, Proytcheva M, Machin SJ. ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. *Int J Lab Hematol.* 37:287-303 (2015)

Panteghini M. Recent approaches to the standardization of cardiac markers. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 61:95-102 (2001)

Panteghini M, Ceriotti F, Schumann G, Siekmann L. Establishing a reference system in clinical enzymology. *Clin. Chem. Lab. Med.* 39:795-800 (2001)

Panteghini M. Current concepts in standardization of cardiac marker immunoassays. *Clin Chem Lab Med.* 42:3-8. (2004)

Panteghini M, Ceriotti F, Jones G, Oosterhuis W, Plebani M and Sandberg S, Task Force on Performance Specifications in Laboratory Medicine of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). Strategies to define performance specifications in laboratory medicine: 3 years on from the Milan Strategic Conference. *Clin Chem Lab Med.* 55:1849-1856 (2017)

Penttilä I, Penttilä K, Holm P, Laitinen H, Ranta P, Törrönen J, Rauramaa R. Methods, units and quality requirements for the analysis of haemoglobin A1c in diabetes mellitus. *World J Methodol.* 6:133-142 (2016)

Pesce AJ, Rashkin M, Kotagal U. Standards of laboratory practice: theophylline and caffeine monitoring. National Academy of Clinical Biochemistry. *Clin Chem.* 44:1124-1128 (1998)

Plebani M. Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine? *Clin Chem Lab Med* 44:750-759 (2006)

Plebani M, Astion ML, Barth JH, Chen W, de Oliveira Galoro CA, Escuer MI, et al. Harmonization of quality indicators in laboratory medicine. A preliminary consensus. *Clin Chem Lab Med* 52:951-958 (2014)

- Plebani M. Quality in laboratory medicine: 50 years on. *Clin Biochem* 50:101-104 (2017)
- Plebani M. Analytical quality: an unfinished journey. *Clin Chem Lab Med* 56:357-359.(2018)(Plebani, 2018a)
- Plebani M. Harmonization in laboratory medicine: more than clinical chemistry? *Clin Chem Lab Med* 56:1579-1586 (2018) (Plebani, 2018b)
- Poller L, Ibrahim S, Pattison A, Jespersen J. European Action on Anticoagulation (EAA), formerly European Concerted Action on Anticoagulation (ECAA). INR derivation with the PT/INR Line simplified using a spreadsheet from the world wide web. *J Clin. Pathol.* 64:930-932 (2011)
- Rami L, Roura M, Canalias F. Evaluation of commutability of several materials for harmonization alkaline phosphatase catalytic concentration measurements. *Clin Chim Acta.* 413:1249-1254 (2012)
- Reimers A, Berg JA, Burns ML, Brodtkorb E, Johannessen SI, Johannessen Landmark C' Reference ranges for antiepileptic drugs revisited: a practical approach to establish national guidelines. *Drug Des Devel Ther.* 12:271-280 (2018)
- Rosenberg V, Donald A. Evidence based medicine: an approach to clinical problem-solving. *BMJ* 310:1122-1126 (1995)
- Saenger AK, Rodriguez-Fraga O, Ler R, Ordonez-Llanos J, Jaffe AS, Goetze JP, Apple FS. Specificity of B-Type Natriuretic Peptide Assays: Cross-Reactivity with Different BNP, NT-proBNP, and proBNP Peptides. *Clin Chem.* 63:351-358 (2017)
- Sameri RM, Soberman JE, Finch CK, Self TH. Lower serum digoxin concentrations in heart failure and reassessment of laboratory report forms. *Am J Med Sci.* 324:10-13 (2002).
- Schreiber-Deturmeny E Bruguerolle B. Simultaneous high-performance liquid chromatographic determination of caffeine and theophylline for routine drug monitoring in human plasma. *J Chromatogr B Biomed Appl.* 677:305-312. (1996)
- Schumann G, Bonnora R, Ceriotti F, Clerc-Renaud P, Ferrero CA, Ferard G et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 2. Reference procedures for the measurement of catalytic concentration of creatine kinase. *Clin. Chem. Lab. Med* 40:635-642 (2002) (Schumann G et al, 2002a)
- Schumann G, Bonnora R, Ceriotti F, Clerc-Renaud P, Ferrero CA, Ferard G et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 3. Reference procedures for the measurement of catalytic concentration of lactate dehydrogenase. *Clin. Chem. Lab. Med* 40:643-648 (2002) (Schumann G et al, 2002b)
- Schumann G, Bonnora R, Ceriotti F, Ferard G, Ferrero CA, Franck PF et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 4. Reference procedures for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase *Clin. Chem. Lab. Med* 40:718-724 (2002) (Schumann G et al, 2002c)
- Schumann G, Bonnora R, Ceriotti F, Ferard G, Ferrero CA, Franck PF et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 5. Reference procedures for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase *Clin. Chem. Lab. Med* 40:725-733 (2002) (Schumann G et al, 2002d)

Schumann G, Bonnora R, Ceriotti F, Ferand G, Ferrero CA, Franck PF et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 6. Reference procedures for the measurement of catalytic concentration of  $\gamma$ -glutamyl transferase. *Clin. Chem. Lab. Med* 40:754-758 (2002) (Schumann G et al, 2002e)

Schumann G, Aok R, Ferrero CA, Ehlers G, Ferand G, Gela FJ et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 8. Reference procedures for the measurement of catalytic concentration of  $\gamma$ -glutamyl transferase. *Clin. Chem. Lab. Med* 44:1146-1155 (2006)

Schumann G, Ceriotti F, Panteghini M. Standardization in clinical enzymology: a challenge for the theory of metrological traceability. *Clin. Chem. Lab. Med.* 48:301-307 (2010)

Schumann G, Klauke R, Canalias F, Bossert –Reuther S, Franck PF, Gella FJ et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 9. Reference procedures for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase *Clin. Chem. Lab. Med* 49:1439-1446 (2011)

Sciacovelli L, Panteghini M, Lippi G, Sumarac Z, et al. Defining a roadmap for harmonizing quality indicators in Laboratory Medicine: a consensus statement on behalf of the IFCC Working Group „Laboratory Error and Patient Safety” and EFLM Task and Finish Group „Performance specifications for the extra-analytical phases”. *Clin Chem Lab Med* 55:1478-1488 (2017)

Seeger C, Shipkova M, Christians U, Billaud EM, Wang P, Holt DW, Brunet M, Kunicki PK, Pawiński T, Langman LJ, Marquet P, Oellerich M, Wieland E, Wallemacq P. Assuring the Proper Analytical Performance of Measurement Procedures for Immunosuppressive Drug Concentrations in Clinical Practice: Recommendations of the International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology Immunosuppressive Drug Scientific Committee. *Ther Drug Monit.* 38:170-189 (2016)

Semenov AG, Tamm NN, Apple FS, Schulz KM, Love SA, Ler R, Feygina EE, Katrukha AG. Searching for a BNP standard glycosylated proBNP as a common calibrator enables improved comparability of commercial BNP immunoassays. *Clin. Biochem.* 50:181-185 (2017)

Senent L, Arenillas L, Luño E, Ruiz JC, Sanz G, Florensa L. Reproducibility of the World Health Organization 2008 criteria for myelodysplastic syndromes. *Haematologica.* 98:568–575 (2013)

Simons FE, Rigatto H, Simons KJ. Pharmacokinetics of theophylline in neonates. *Semin Perinatol.* 5:337-345 (1981)

Simons SA, Molinelli AR, Sobhani K, Ramey PM, Eloofnagle A. Two cases with unusual vancomycin measurements. *Clin. Chem. Acta* 55:578-582 (2009)

Snell NJC. Drug interactions with anti-asthma medication. *Respir Med* 88:83-88 (1994)

Solberg HE. The IFCC recommendations on estimation of reference intervals. The RefVal Program. *Clin Chem Lab Med* . 42:710-714 (2004)

Soni K, Patel N, Singh K, Jha A, Patel H, Gupta R, Srinivas NR. A Sensitive Triple Quadrupole Liquid Chromatography Mass Spectrometric Method for the Estimation of Valproic Acid in K2EDTA Human Plasma using Furosemide as the Internal Standard. *Drug Res (Stuttg).* 66:666-672. (2016)

Stenman UH. Immunoassay Standardization: Is It Possible, Who Is Responsible, Who Is Capable? *Clin. Chem* 47:815-820 (2001)

- Sturgeon C. Standardization of tumor markers – priorities identified through external quality assesment. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 245:S94-99 (2016)
- Stöckl D, Franzini C, Kratochvila J, Middle J, Ricos C, Siekmann L, Thienpont LM. Analytical specifications of reference method compliation and critical discussion (from the members of the European EQA-Organizers Working Group B) *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 34:319-337 (1996)
- Taibon J, Schmid R, Lucha S, Pongratz S, Tarasov K, Seger C, Timm C, Thiele R, Herlan JM, Kobold U. An LC-MS/MS based candidate reference method for the quantification of carbamazepine in human serum. *Clin Chim Acta.* 472:35-40 (2017)
- Tamm NN, et al. Novel immunoassay for quantification of brain natriuretic peptide and its precursor in human blood. *Clin. Chem.* 54:1511-1518 (2008)
- Tang W.H., Francis G.S., Morrow D.A., Newby L.K., Cannon C.P., Jesse R.L., et al., Nationalacademy of clinical biochemistry laboratory medicine practice guidelines: clinical utilization of cardiac biomarker testing in heart failure, *Circulation* 116 e99–109 (2007)
- Thappali SR, Varanasi KV, Veeraraghavan S, Vakkalanka SK, Khagga M. Simultaneous determination of methotrexate, dasatinib and its active metabolite N- deshydroxyethyl dasatinib in rat plasma by LC-MS/MS: method validation and application to pharmacokinetic study. *Arzneimittelforschung.* 62:624-630 (2012)
- Tate J, Panteghini M. Standardization of cardiac troponin I measurements – the way forward. *biochimica clinica,* 35:461-464 (2011)
- Thomas JB, Yen JH, Schantz MM, Porter BJ, Sharpless KE. Determination of caffeine, theobromine, and theophylline in standard reference material 2384, baking chocolate, using reversed-phase liquidchromatography. *J Agric Food Chem.* 52:3259-3263 (2004)
- Thomas JB, Sharpless KE, Mitvalsky S, Roman M, Yen J, Satterfield MB. Determination of caffeine and caffeine-related metabolites in ephedra-containing standard reference materials using liquidchromatography with absorbance detection and tandem mass spectrometry. *J AOAC Int.* 90:934-940 (2007)
- Thomson JM, Taberner DA, Poller L. Automation and prothrombin time: a United Kingdom field study of two widely used coagulometers. *J. Clin. Pathol.* 43:679-684 (1990)
- Tong Q, Chen B, Zhang R, Zuo C. Standardization of clinical enzyme analysis using frozen human serum pools with values assigned by the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine reference measurement procedures. *Scand J Clin Lab Invest.* 78:74-80 (2018)
- Tonutti E, Visentini D, Bizzaro N. Interpretative comments on autoantibody tests. *Autoimmun Rev.* 6:341-346 (2007)
- Torma AF, Groves K, Biesenbruch S, Mussell C, Reid A, Ellison S, Cramer R, Quaglia M. A candidate liquid chromatography mass spectrometry reference method for the quantification of the cardiac marker 1-32 B-type natriuretic peptide. *Clin Chem Lab Med.* 55:1397-1406 (2017)
- Tripodi A., Chantarangkul V, Pengo V. Standardization of lupus anticoagulant. The Lupus Anticoagulant Sensitivity Index (LASI). *Lupus* 21:715-717 (2012)
- Tricyclic antidepressants – Blood level measurements and clinical outcome: An APA Task Force Report. Task Force on the use of laboratory methods in Psychiatry. *Psychiatry* 142:155-162 (2006)

- Tuzzoli R, Vilalta D, Bizzaro N. Challenges in the standardization of autoantibody testing: a comprehensive review. *Clin Rev Allerg. Immunol.* 53: 68-77 (2017)
- Tozzoli R, Villalta D, Bizzaro N. Challenges in the Standardization of Autoantibody Testing: a Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 53:68-77 (2017)
- Twernbold R, Reichlin T, Reiter M, Muller C. High-sensitive cardiac troponin: friend or foe? *Swiss. Med. Wkly* 141:w3202 (2011)
- Yoong W, Yeo CP. Clinical laboratory diagnostics of immunosuppressants: One laboratory's journey. *Proceedings of Singapore Healthcare* 24:219-224 (2015)
- Van Eeckhaut A, Lanckmans K, Sarre S, Smolders I, Michotte Y, Vesper HW, Myers GL, Miller WG. Validation of bioanalytical LC-MS/MS assays: evaluation of matrix effects. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 877:2198-207 (2009)
- Vásárhelyi B. Hemoglobin-A-1c-szint-mérés: analitikai vonatkozások és ezek jelentősége a klinikai döntéshozatalban. *Orv. Hetil.* 157:753-757 (2016)
- Vesper HW, Myers GL, Miller WG. Current practices and challenges in the standardization and harmonization of clinical laboratory tests. *Am J Clin Nutr* 104:907S–12S (2016)
- Vogesser M, Seger C. Pitfalls associated with the use of liquid chromatography-tandem mass spectrometry in the clinical laboratory. *Clin. Chem.* 56:1234-1244 (2010)
- Vu RL, Helmeste D, Albers L, Reist C. Rapid determination of venlafaxine and O-desmethylvenlafaxine in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 703:195-201 (1997)
- Walz B, Fierz W. The concept of reference change values (RCV). Will it supersede reference intervals? *Ther Umsch.* 72:130-135 (2015)
- Westgard, J.O. Barry, PL, Hunt MR, Groth, T. A Multi-Rule Shewhart Chart For Quality Control In Clinical Chemistry. *Clin. Chem.* 27:493-501 (1981).
- Westgard JO, Westgard SA. Measuring analytical quality. Total analytical error versus measurement uncertainty. *Clin Lab Med* 37:1-13 (2017)
- Weykamp CW, Penders TJ, Muskiet FA, van der Slik W. Effect of calibration on dispersion of glycohemoglobin values determined by 111 laboratories using 21 methods. *Clin. Chem.* 40:138-144 (1994)
- Widmer N, Bardin C, Chatelut E, Paci A, Beinen J, Leveque D, Veal G, Astier A. Review of therapeutic drug monitoring of anticancer drugs part two – Targeted therapies. *Eur J Cancer* 50:2020-2036 (2014)
- Wilson D, Johnston F, Holt D, Moreton M, Engelmayer J, Gaulier J-M, Luthe H, Marquet P, Moscato D, Oellerich M, Mosso R, Streit F, Brunet M, Filler C, Schmid R, Wallemacq P, Barnes G. Multi-center evaluation of analytical performance of the microparticle enzyme immunoassay for sirolimus. *Clin. Biochem.* 39:378-389 (2006)
- Winter WE, Flax SD, Harris NS. Coagulation Testing in the Core Laboratory. *Lab Med.* 48:295-313 (2017)

Whicher JT, Ritchie RF, Johnson AM, Bauchner S, Benvenu J, Blirup-Jensen S, Carlstrom A, Dati F, Ward AM, Svendsen PJ. New international reference preparation for proteins in human serum (RPPHS). *Clin. Chem.* 40:934-938 (1994)

White S, Wong SHY. Standards of laboratory practice: analgesic drug monitoring. *Clinical Chemistry* 44:1110-1123 (1998)

Woods AI, Sanchez-Luceros A, Bermejo E et al. Identification of pW2461, as a novel mutation in the gene responsible for platelet-type von Willebrand disease. *Semin. Thromb. Hemost.* 40:151-160 (2014)

Wu JT, Pieper JK, Wu LH, Peters JL, Isolation and characterization of myoglobin and two major isoforms from sheep heart. *Clin. Chem.* 35:778-782 (1989)

Zhang Y, Zhang R. Recent advances in analytical methods for the therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs. *Drug Test. Anal.* 10:81-94 (2018)

Zhao L, Yang P, Li P, Wang X, Qin W, Zhang X. Efficiency of individual dosage of digoxin with calculated concentration. *Clin Interv Aging.* 9:1205-1210. (2014)

Zheng B, Li E, Zhu H, Lu J, Shi X, Zhang J, Li M. Automated antinuclear immunofluorescence antibody analysis is a reliable approach in routine clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med.* 55:1922-1930. (2017)