

8. A vizsgálati eredmények kifejezés módjai – Dimenziók, vonatkoztatások

LISZT FERENC

Mértékegységrendszerek

A laboratóriumi kvantitatív analitikai folyamatokban megszülető eredmények a számszerű érték mellett minden esetben mértékegységgel is rendelkeznek. A metrikus mértékegységrendszer alapjául a francia nemzetgyűlés 1791-ben fogadta el a métert és a kilogrammot. Tizennyolc állam (köztük hazánk is) 1875-ben Párizsban írta alá az első nemzetközi mértékegyleményt. Ezt követte az 1881-ben elfogadott CGS rendszer, amelyet 1939-ben felváltott a nemzetközileg is elfogadott – a méter, a kilogramm, a másodperc és az amper mértékegységen alapuló – MKSA mértékegységrendszer. 1948-ban ezt kiegészítették további három alap mértékegységgel: az erő (newton), az energia (joule) és a teljesítmény (watt) egységével.

A *Mértékegységek Nemzetközi Rendszere, SI* (Système International d'Unités) a legújabb, nemzetközileg elfogadott mértékegységrendszer, amely néhány kiválasztott mértékegységen, ill. a tíz hatványain alapul. A mértékegységek rendszerét az alapegységek, a kiegészítő egységek és a velük leírható származtatott egységek alkotják. A mértékegységek nagyságrendjét a prefixumok (előtagok) adják meg. A jelenleg használt SI mértékegységrendszert a XI. Általános Súly- és Mértékügyi Konferencia fogadta el 1960-ban. Magyarországon 1960-tól az SI figyelembevételével készült kormányrendelet szabályozta a mértékegységek használatát. 1972-ben megjelent az MSZ 4900 „Fizikai mennyiségek neve, jele és mértékegysége” című szabvány, amely teljes egészében a nemzetközi mértékegységrendszert használta, de kötelező használatát nem írta elő. 1976-ban adták ki a 8/1976. (IV.27) MT. sz. rendeletet, amely előírta az SI rendszerre való kötelező áttérést és az SI kizárólagos használatát (azaz más mértékegységek használatának tilalmát) 1980. január 1-jétől tette kötelezővé. A WHO 30. közgyűlésén 1977-ben a tagországok elfogadták

az SI mértékegységrendszer bevezetését az egészségügyben. A Magyar Köztársaság országgyűlése az 1991. évi XLV. törvény 1. mellékletében ismét meghatározta a szabványos magyar mértékegységrendszer alapjait, az 1976 óta ismertté vált tudományos eredmények figyelembevételével.

Az általános laboratóriumi rutin és kutatás gyakorlatában ma alkalmazott *SI mértékegységrendszernek hét alapegysége van:*

1. Hosszúság: m (méter).
2. Tömeg: kg (kilogramm).
3. Idő: s (másodperc).
4. Elektromos áramerősség: A (amper).
5. Termodinamikai hőmérséklet: °K (kelvin).
6. Fényerősség: cd (kandela).
7. Anyagmennyiség: mol (mól).

A laboratóriumi gyakorlatban sokszor alkalmazunk *származtatott SI mértékegységeket* is:

1. Térfogat: m³ (köbméter), ill. tört része: dm³ (köbdeciméter).
2. Sűrűség: kg/m³ (kilogramm/köbméter).
3. Anyagmennyiség-koncentráció: mol/m³ (mól/köbméter).
4. Molalitás (mol/kg oldószer).

Az SI rendszer bevezetése a legtöbb országban orvosi, biológiai laboratóriumban csak részben valósult meg, manapság is használnak több régebbi, nem SI mértékegységet, pl. Hgmm, °C, U/L, mol/L, kg/L.

Egyéb használt mértékegységek:

1. Térfogat (űrtartalom): L (liter = 1 dm³ = 10⁻³ m³).
2. Hőmérséklet: °C (Celsius-fok).
3. Tömegkoncentráció: g/L (gramm/liter).
4. (Sejt) szám koncentráció: 1/L.
5. Molaritás (anyagmennyiség-koncentráció): mol/L (mol/liter oldat).
6. Katalitikus aktivitás (nem SI egység): U (nemzet-

közi enzim egység, 1 U = egy perc alatt átalakított egy mikromol szubsztrát).

7. Katalitikus aktivitás (SI egység): kat (1 katal = egy s alatt átalakított egy mol szubsztrát).
8. Katalitikus aktivitáskoncentráció (nem SI egység): U/L (1 nemzetközi egység/liter).
9. Katalitikus aktivitáskoncentráció (SI egység): kat/L (1 katal/liter).

Az analitikai referenciarendszer és elemei

Egy biológiai minta adott komponensei esetében a laboratóriumi mérési eredmények valósága akkor biztosítható teljes körűen, ha a laboratórium által működtetett mérőrendszer kalibrációja és valóságmeghatározó eljárása dokumentáltan visszavezethető az SI rendszerig. Ezt az MSZ EN ISO/IEC 17025:2005 (Vizsgáló és kalibrálólaboratóriumok felkészültségének általános követelményei) és az MSZ EN ISO 15189:2007 (Orvosi laboratóriumok. A minőségre és a felkészültségre vonatkozó külön követelmények) szabvány pontosan meghatározza.

A mérések valósága a legmagasabb rangú etalonokhoz (primer referenciakalibrátor, primer referencia-mérőmódszer) való visszavezetés révén, referenciarendszerben biztosítható.

A referenciarendszer összetevői:

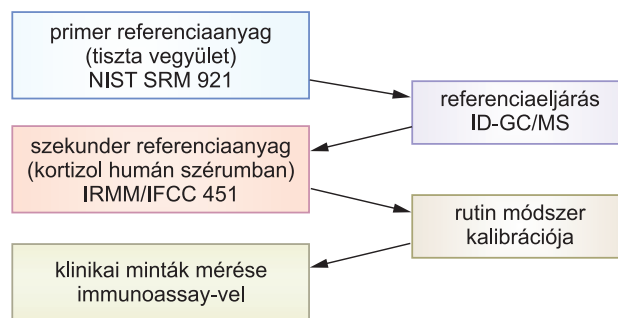
- A mérendő komponens pontos definiálása a humán mintában.
- A komponenszt specifikusan mérő referencia-módszer.
- Primer vagy szekunder, mátrix alapú referens anyag.
- Referencialaboratóriumok hálózata.

A laboratóriumi medicinában és a kutatásban is több száz különböző analit koncentrációját határozzuk meg, a vizsgált komponens pontos definiálása alapvető igény.

Az *A típusú analitok* pontosan meghatározott molekulatömegű molekulák, melyek visszavezethetők SI mértékegységre, amennyiben megfelelő mérési eljárás és kalibrátorok rendelkezésre állnak. Az *A típusú analitok* közé tartoznak a klasszikus klinikai kémia analitjai, elektrolitok, ásványi anyagok, anyagcsere-termékek (pl. koleszterin, kreatinin, húgysav), szteroidok, vitaminok, gyógyszerek. A mérések eredményét

mol/L, elfogadott SI egységben adjuk meg. Mivel az *A típusú analitok* megfelelően tisztított formában előállíthatók, a komponenszt tartalmazó referenciaanyagok könnyen előállíthatók és a rutin mérési eljárástól független referenciaeljárás kifejleszthető. Jó példa egy referenciamérési rendszerrel vizsgált *A típusú analit*, a kortizol meghatározása vérérszérumban. A kortizol, jól definiált molekulatömeggel bíró anyag, koncentrációja mol/L-ben kifejezhető, és gravimetriás úton megfelelően tiszta anyagból primer referenciaanyag készíthető. A referenciamérési eljárás, pl. izotóphígításos gázkromatográfia, tömegspektrometria (ID-GC/MS) közvetlenül kalibrálható erre az elsődleges referenciaanyagra. A referenciaeljárást alkalmazó, jól definiált körülmények között dolgozó referencia-laboratóriumok rendelik hozzá a hiteles értékeket a másodlagos mátrix referenciaanyagokhoz. A gyártók ezeket az eredményeket alkalmazzák a rutin módszerek kalibrálásához, ami visszavezethető eredményeket biztosít a végfelhasználó rutin módszer számára (8-1. ábra).

A *B típusú analitok* (ezek száma az *A típusú analitok* számát sokszorosán meghaladja) vizsgálatkor a komponens olyan heterogén molekula (legtöbbször fehérje), amelyhez nem lehet meghatározott, homogén molekuláris szerkezetet rendelni. A mérést legtöbbször valamilyen immunkémiai technikával végzik, az eredmények nem fejezhetők ki SI egységben, csak tömegegységben (g/L) vagy önkényes egységekben, ill. WHO által javasolt nemzetközi egységekben. Jó példa a nem SI rendszerben visszavezethető biológiai analitra a plazmaprolaktin. Ha ezt a komponenszt mérjük, valójában a különböző mennyiségben előforduló három különböző izoformát mérjük: prolaktin-A, prolaktin-B és prolaktin-C, amelyek aránya a keverékben ismeretlen. A *B típusú biológiai anali-*



8-1. ábra. A referenciarendszer koncepciója a gyakorlatban, a szérumkortizol-meghatározás példáján

tokat általában immunkémiai eljárásokkal mérjük, ahol különböző reagensek eltérő módon reagálnak a molekula különböző epitópjaival, egymással ugyan arányban lévő, de eltérő koncentrációértékeket eredményezve. Következésképpen, a nem SI rendszerben visszavezethető, különböző immunkémiai eljárásokkal meghatározott biológiai analitok mérési eredményei nem hasonlíthatók össze. Ezek a tények drámai következménnyel járnak az inter- és intraindividuális biológiai szórás vizsgálatok értékelésénél. Biológiai eltérések esetén a különböző immunkémiai mérési eljárásokkal kapott eredményeket nem szabad összevonni.

Így a B típusú analitoknál a referenciaanyagok előállítása sokkal nagyobb nehézséget jelent. Mivel az analitok rendkívül heterogének lehetnek – összetételük a különböző humán testfolyadékokban változó –, ezért minden B típusú analit referenciaanyaga csak korlátozott mértékben lehet azonos a beteg mintájával. Ezek a referenciaanyagok bizonyos mértékig hasonlíthatnak a humán testfolyadék minta heterogén keverékére, de ez csak „átlagos” mértéket jelent. Továbbá a B típusú analitoknál a rutinszerűen alkalmazott eljárásoktól független referenciameghatározási eljárások jelenleg az esetek többségében hiányoznak. Így az értékek hozzárendelése a szóba jövő referenciaanyagokhoz gyakran problematikus. Ennek következtében a gyártók készítik el saját kalibrátorukat a rendelkezésre álló preparátumból, és hozzárendelik tömegmérés alapján az értékeket, ez pedig a különböző gyártók közti eltérésekhez vezethet.

A klinikai laboratóriumi mérési eredmények metrológiai visszavezethetősége (visszakövethetősége) annak az elvnek a gyakorlati megvalósítása, hogy a laboratóriumi leleten feltüntetett rutin mérési eredmény pontosságát és valódiságát ismert és egyre csökkenő bizonytalanságú (azaz egyre megbízhatóbb) standardizált összehasonlítások, szabványos hiteles mérések megszakítatlan láncolata garantálja. A rutin laboratóriumi mérési eredmény ezen a szabványos, megbízható, hiteles mérési láncolaton keresztül vezetődik vissza országos vagy nemzetközi etalonokhoz, referenciaanyagokhoz és referenciamérési eljárásokhoz. A láncolat minden tagjának pontossága, valódisága ismert és garantált, ami biztosítja az eredmény pontosságát és valódiságát.

Különösen fontos, hogy laboratórium ismerje a mért mintakomponens esetében a használt kalib-

rátor (valódiságkontroll) hibáját és a komponensre vonatkozó összes megengedett hibát. Ha ez kisebb vagy egyenlő, mint a kalibrátor kumulált hibájának és a mérési rendszer összes hibájának összege, akkor a rendszer egyáltalán nem kontrollálható és nem is alkalmas az adott komponens mérésére.

A bizonyított (bizonylatolt) visszavezethetőség teszi lehetővé azt is, hogy összehasonlíthassuk adott beteg adott paraméterének különböző laboratóriumok által különböző időpontokban különböző rutin mérési módszerekkel meghatározott értékét. Ezt az biztosítja, hogy egy mintakomponens többféle mérőmódszerének kalibrátor anyagait közös referens kalibrátorral vagy referens módszerrel ellenőrzik és állítják be.

Ez a mérési lánc a klinikai laboratóriumokban kezdődik, a referencia laboratóriumokon át és az in vitro diagnosztikumok előállítóinak (IVD gyártók) laboratóriumaiban folytatódik, és a nemzeti és nemzetközi laboratóriumi intézeteken át halad a nemzeti és nemzetközi metrológiai intézetekig.

A leletezéshez mérés technikai és mérési jogi aspektusból szükséges az elsődleges standarddal, azaz meggyőzően bizonyított és igazolt „kommutabilitással” (transzferabilitással, átvihetőséggel) rendelkező referens anyaggal végzett kalibrálás, a gyártó által meghatározottak szerint használt mérési módszer, a kontrollok, a minta, a laboratóriumi végfelhasználói rutin (beteg) mérés eredménye valódiságának az ellenőrizhetősége. A mérőrendszer hitelesítését és ellenőrzését a mérési feladat megvalósításához tartozó valamennyi elem, tehát a megoldás sorrendjében a kalibrálástól a minta mérési eredményéig halmozódó hibák becslésén alapuló mérési bizonytalanság, míg ellenkező irányban az etalonokra (definitív módszerre és primer referenciaanyagra) való visszavezethetőség jellemzi.

Az európai In Vitro Diagnostical Directive (In Vitro Diagnosztikai Irányelv, IVDD, az Európai Parlament és Tanács 98/79/EC számú irányelve) az in vitro diagnosztikai orvosi eszközökre vonatkozik, és előírja, hogy a klinikai laboratóriumi rutin mérési eredmények megbízhatóságát mérés technikailag biztosító kalibrátorok és valódiságkontroll anyagok értékeinek visszavezethetőnek kell lennie valamilyen elsődleges referenciamérési eljárásra vagy referens kalibrátor anyagra.

A primer referenciaanyagtól és a primer referenciamódszertől kiinduló mérési láncolat végén áll a ru-

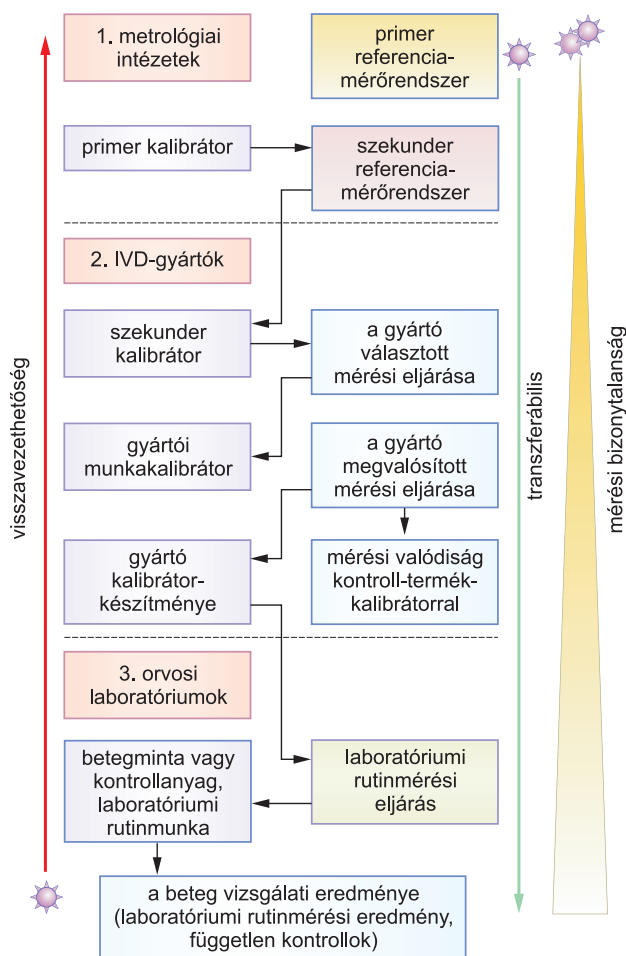
tin laboratóriumi mérési eredmény, amint azt a 8-2. ábra mutatja. A metrológiai visszavezethetőség (visszakövethetőség) iránya az ábra nyílirányaival ellentétes, a laboratóriumi mérési hitelességét az adja, hogy dokumentáltan visszavezethető a primer kalibrátorral kalibrált primer referencia-mérőrendszerre. A folyamat ellenkező irányban is igaz: „commutability”-nek vagy a magyarított kifejezéssel *transzferabilitásnak*, *kommutabilitásnak* nevezzük.

Jelenleg elsősorban két szabvány foglalkozik az eredmények visszavezethetőségével. Az EN ISO 17511:2003 a kalibrátorok és a valódiságkontroll anyagok értékeinek metrológiai visszavezethetőségével, az EN ISO 18153:2003 a kalibrátorok és a valódiságkontroll anyagok enzimkoncentráció-értékeinek metrológiai visszavezethetőségével foglalkozik. A pontosság ellenőrzését szolgáló kontrollanyagokra ez a két szabvány nem vonatkozik. Ismeretes több, részben kapcsolódó szabvány is, pl. az EN 12287:1999 a

referenciaanyagokkal, az EN ISO 15197:2003 a kalibrátorok és a kontrollanyagok értékeinek metrológiai visszavezethetőségének ellenőrzésével foglalkozik. Manapság még nem minden anyag (mintakomponens) esetén hozható létre ez a mérési visszavezetési láncolat, nem minden mérendő komponensre van nemzetközileg elfogadott referenciaanyag vagy referenciamérési eljárás, és a láncolat gyakran végződik az IVD-gyártóknál.

A Laboratóriumi Medicina Visszavezethetőségi Egyesített Bizottsága (JCTLM Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine) a gyártók törekvéseit egyesíti és irányítja az IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine), a BIPM (Bureau International des Poids et Mesures) és az ILAC (International Laboratory Accreditation Cooperation) közös bizottságaként. Tagjai között 23 nemzetközi szervezet támogatásával működik együtt a megfelelő referens anyagok és referens mérőmódszerek kutatásában. A JCTLM iránymutatást ad arra vonatkozóan, hogy a klinikai laboratóriumok mérési eredményei nemzetközileg is összehasonlíthatók, egyenértékűek és a mérési szabványoknak megfelelően visszavezethetők legyenek.

A jelenleg rendelkezésre álló referens anyagok és mérőmódszerek listáját a JCTLM állítja össze.



8-2. ábra. A laboratóriumi mérési eredmények visszavezethetőségi láncolata, transzferabilitás és a mérési bizonytalanság

A fehérjemeghatározások standardizálása

A fehérje mennyiségi vizsgálatok eredményeinek összehangolására világszerte nagy igény jelentkezik, elsősorban a populáció mobilitásának és migrációjának következtében: az alkalmazott módszereket egységesíteni kell. Korábban számos kísérletet tettek a cél elérése érdekében. A hatvanas években a Rowe és munkatársai által készített referenciakészítmény humán szérumimmunglobulin-mérésekhez azzal a céllal készült, hogy a különböző laboratóriumok eredményei összehasonlíthatóbbak legyenek. Korábban azt gondolták, hogy a laboratóriumok közötti nagy variabilitás annak köszönhető, hogy eltérő standard preparátumokat, antiszérumokat és elsősorban manuális módszereket alkalmaznak. A közös kalibrátor használata révén az eredmények reprodukálhatósága jelentősen javult. Ez a preparátum volt az első jelentős lépés a fehérjevizsgálatok harmonizációjában. 1973-ban a WHO és az IUIS (International Union

of Immunological Societies) kezdte meg egy új standard kifejlesztését. A választott készítmény lett az US National Reference Preparation (USNRP) és a WHO referenciapreparátuma (WHO6HSP) hat humán szérumfehérjére. Önkényesen nemzetközi egységeket rendeltek az albuminhoz (ALB), az α_1 -antitripszinhez (AAT), a cöruoplazminhoz (CER), az α_2 -makroglobulinhoz (A2M), a transzferrinhez (TRF) és a komplement C3c-hoz, míg az immunglobulin-koncentrációk (IgA, IgG, IgM) esetében a korábbi WHO 67/86 preparátum volt használatos. A hetvenes években bekövetkező jelentős változások eredményeképpen a szérumfehérjék koncentrációjának meghatározására bevezetett turbidimetriás és nefelometriás tesztek megkövetelték a nem turbid referencia anyagokhasználatát. Az IFCC a plazmafehérje-vizsgálatok egységesítése érdekében kidolgozta az IFCC 74/1 referenciaanyagot, amely az összes technikára (gél alapú és turbidimetriás vagy nefelometriás módszerre) alkalmazható volt. Szigorú protokoll szerint készített referenciaanyag volt, szöveti és leukocyta proteáz-mentes, az előállítás során kiküszöbölték a fibrinogén hatását és a liofilizálást követő denaturációt. A nyolcvanas évek a példa nélküli változások ideje volt a fehérjelaboratóriumokban. A gél alapú, 24–48 órát igénylő mennyiségi fehérjemeghatározásoktól a 3–5 órás fix idejű nefelometrián keresztül a kinetikus nefelometria vagy az automatizált, egy-két perc mérési idejű turbidimetria felé tolódtak el az analízisek. A munkaterhelés drámaian megnövekedett a monoklonális fehérjék, a B-sejtes malignitások, az immunhiányos elváltozások és a speciális fehérjemeghatározások (CRP, AAT, TRF, C3, C4, HPT) bevezetésének következtében. A diagnosztikai cégek bevezették a fehérjevizsgáló automatákat, az EQA cégek specifikus fehérjeprogramokat vezettek be a megbízható és összehasonlítható eredmények biztosítása érdekében. A speciális laboratóriumok helyett a vizsgálatok a rutin klinikai kémiai laboratóriumok részévé váltak és bizonyos fehérjevizsgálatokat sürgősséggel is elkezdtek használni. Ugyanakkor az EQA adatok Európában és az USA-ban néha 100%-os szórást mutattak. Ennek oka a referenciaanyagok kommutabilitásának hiánya, a különböző szekunder referenciaanyagok használata és a modern optikai mérőrendszerekre használható referenciaanyagok hiánya volt.

Mindebből egyértelmű volt, hogy a laboratóriumok közötti variabilitás csökkentése érdekében

nemzetközileg elfogadott referenciaanyagokra van szükség. 1989-ben az IFCC Committee on Plasma Proteins vezetésével folyamat indult egy új, 14 szérumfehérjét tartalmazó másodlagos (mátrix) referenciaanyag készítmény preparálására, jellemzésére és kalibrálására. A preparátumhoz tisztított CRP-t is adtak. A referenciaanyag előállítása közben még szigorúbb feltételeket kellett teljesíteni, mint a korábbiak esetében: a donoroknak 12 órás éhomi vérvételt írtak elő, a lipaemiás, turbid és icterusos mintákat nem használták fel, az esetleges maradék lipideket szilícium-dioxidra adszorbeáltatták. Vizsgálták az AAT és a HPT fenotípust, és a pozitív reumatoid faktort vagy elektroforetikusan kimutatott monoklonális fehérjét tartalmazó mintákat elvetették. Csak a hepatitis B- és C-vírus- és a HIV-mentes mintákat használták fel. A preparátumokat az European Community Bureau of Reference (BCR) hitelesítette mint hiteles anyagmintát, és CRM 470 néven tették elérhetővé 1993-1994-ben, majd később átnevezték ERM-DA470-ra.

2004-ben az ERM-DA470 (eredetileg CRM 470-nek nevezett) referenciaanyag készleteinek kimerülése miatt az European Institute for Reference Materials (IRMM) vette át a feladatot egy új referenciaanyag elkészítésére. Az eljárás a sikeresnek bizonyult ERM-DA470 előállítási módja volt, ugyanakkor a fejlesztés és a gyártás egy új tétel referenciaanyagok esetében lehetőséget nyújtott bizonyos kérdések megváltozására és optimalizálására. Elhatározták a β_2 -mikroglobulin (B_2M), a myeloma multiplex prognosztikus indikátorának addícióját és az α_1 -antitripszin (ACT) kihagyását a referenciaanyagból.

Előkísérletekben vizsgálták a tervezett változások, a rekombináns B_2M addíciójának és a dialízis helyett diafiltráció bevezetésének hatását. A β_2M addíciója nem befolyásolta más fehérjék stabilitását. A liofilizálás és az azt követő feloldás a CRP visszanyerésének csökkenését eredményezte, de a probléma a liofilizálás előtt kalcium hozzáadásával kiküszöbölhető volt. Ez a preparátum az ERM-DA470k/IFCC referenciaanyag nevet viseli.

A referenciaanyag homogenitását, stabilitását és kommutabilitását a kilencvenes évek végétől széles körű megvalósíthatósági tanulmányokban vizsgálták. A hosszú távú stabilitás lehetséges következményeként megjelenhető mérési bizonytalanság értékét is feltüntették a hiteles értékben, ahogy azt az ISO Guide 34 megköveteli.

mányban – széles körű megbízhatósági tartománnyal kombinálva –, kevesebb ismételt méréssel képes a minták koncentrációjának meghatározására, és biztosítja az antitesttúlsúlyt.

- *Értéktranszfer eljárások*

A nyolcvanas években fejlesztették ki az eljárást 14 szérumfehérje koncentrációértékének transzferére a tiszta fehérjepreparátumból a CRM 470 (most már az ERM- DA470) referenciaanyagba. A gyakorlati eljárás lényege az, hogy a fehérjepreparátum hat hígítását együtt analizáljuk a referencia- (cél-) preparátum hat hígításával. Ezzel a módszerrel a pontatlanság csökken, és a mátrixhatás jelenléte vagy hiánya közvetlenül értékelhető regressziós egyenes felvételével. Ha mátrixhatások nincsenek, a regressziós egyenes áthalad az origón, az egyenes meredeksége mindkét anyagnál azonos. A protokoll alapja egy több pontos érték hozzárendelése naponta több mérési sorozattal, legalább négy napon belüli ismétléssel. Alapvető feltétel, hogy minden mintavisszaoldást és hígítást tömegméréssel ellenőrizni kell.

- *Végleges hiteles érték hozzárendelés folyamata*

Az ERM-DA470k/IFCC referenciaanyag jellemzésében, a végleges hiteles érték hozzárendelésében 20 laboratórium vett részt. Az összes laboratórium kiváló eredményeket kapott, a variációs koefficiens az összes szérumfehérje esetében jóval 4% alatt volt.

- *ERM-DA470 referencia anyag hatása a fehérje meghatározások harmonizálására*

A legújabb minőségbiztosítási programok lényegében azt mutatják, hogy a legtöbb fehérjemeghatározásnál semmilyen további csökkenés nem mutatkozott a laboratóriumok közötti variabilitásban, bizonyos esetekben az még nőtt is. Problémák jelentkeznek a legtöbb meghatározásnál abban az esetben, ha a fehérje koncentrációja nagyon kicsi vagy a fehérje analit labilis volt, ill. jelentős különbségek mutatkoznak az alkalmazott antitestek epitópfelismerésében, pl. a cöruoplazmin nagyon labilis fehérje, és a különböző antiszérumok reakcióba léphetnek a fehérjefragmenumokkal, ha a fehérje nem ép. A komplementkomponens C4, a cöruoplazminhoz hasonlóan kis koncentrációban

van jelen egészséges emberek vérmintáiban, a rutin, nem érzékenyített immunoassay-k érzékenysége és pontosságának határán. Hasonlóan a fiziológiás körülmények között 2 mg/L koncentráció alatt lévő CRP-hez ebben az esetben érzékenyített nefelometriás vagy turbidimetriás módszert kell használni, ennek harmonizációja viszont igen sok kívánnivalót hagy maga után.

Normálérték és referenciaérték

A laboratóriumi mérési eredmények értékelésében nagy szerepe van a normálértékek vagy helyesebben a referenciaértékek ismeretének. A korábban használt normálérték vagy normál tartomány fogalom – bár manapság is sokszor használatos –, nem egyértelműen definiált fogalom. A laboratóriumi medicinában első megközelítésben a normál tartomány egy analit esetében azt a koncentrációtartományt jelenti, amelyben az egészséges, normális egyének eredményei várhatók. Ezzel a megközelítéssel ugyanakkor számos probléma van:

- Nem definiált az egészséges vagy normális egyének fogalma.
- A mintapopuláció kiválasztási és kizárási kritériumai nem ismertek.
- A mintaadók előkészítése, a mintavétel körülményei ismeretlenek.
- Az alkalmazott analitikai módszer, annak megbízhatósági kritériumai nem ismertek.
- A mintaadók és az analitikai eredmények statisztikai kiértékelése ismeretlen.

A biológiában, medicinában a „normális” fogalom különböző értelmezésben használatos, statisztikai valószínűség eloszlást, károsodást nem okozó hatást is érthetünk alatta. A normálérték meghatározásához szükséges mintapopuláció kiválasztása jelenti a legnagyobb nehézséget, legtöbbször egészségesnek feltételezett orvostanhallgatók, asszisztensek, ápolónők, kórházi személyzet vagy véradók jöhetnek szóba. Ugyanakkor adott paraméter, analit diagnosztikai érzékenysége, hatékonyságának és specificitásának meghatározásához szükséges bizonyos betegségben szenvedő páciensek mintájának vizsgálata is. Az egészséges és beteg közti határok nem egyértelműen definiáltak.

Amikor az irodalomból átvett normál tartomány-nal kívánunk dolgozni, a következő adatokat kell megvizsgálni:

- Az alkalmazott analitikai eljárást, annak elvét és analitikai megbízhatósági kritériumait.
- A normális populációt, a mintaadók számát, nem és kor szerinti megoszlását.
- A preanalitikai tényezőket: a befolyásoló tényezők figyelemvételét, a mintavételi körülményeket és a minták tárolási körülményeit.

A vizsgált problémákra való tekintettel a nyolcvanas évek végén az IFCC kidolgozta a referenciaérték-elméletet, amelynek alapján bevezetésre került a referenciaértékek, referenciatartomány fogalma,

ez jobban definiált, mint a normálérték és a normál tartomány. A laboratóriumi medicinában manapság csak a *referenciaérték* és a *referenciatartomány* fogalom használatos (8-1. táblázat).

IRODALOM

BLIRUP-JENSEN, S.: Protein standardization V: value transfer. A practical protocol for the assignment of serum protein values from a Reference Material to a Target Material. Clin. Chem. Lab. Med. 46(10):1470–1479, 2008.

FUENTES-ARDERIU, X.: Biological variation of non-SI traceable biological quantities: example of proteins. Clin. Chem. Lab. Med. 44(12):1497, 2006.

8-1. táblázat. A referenciaérték koncepciója és sémája

referenciaegyének kiválasztása

A referenciaegyének pontosan definiált kritériumok alapján választhatók ki. Fontos, hogy az egyén egészségi állapota definiált legyen, pontos beválaszthatósági, ill. kizárási körülmények meghatározásával. A kizárási kritériumok között vese, szív, tüdő és májbetegségek szerepelnek. Pontos ismerni kell az alkalmazott gyógyszerek esetleges befolyásoló hatását a vizsgált paraméterre. Bizonyos rizikófaktorok (pl. túlsúly, magas vérnyomás) esetében az egyén szintén kizárható a mintát szolgáltató populációból.



referenciapopuláció képzése a referenciaegyénekből

A referenciapopuláció az összes lehetséges referenciaegyénből áll.



referenciaminták kiválasztása a referenciapopulációból

A referenciaminta pontos számú referenciaegyénből áll, megfelelően reprezentálja a referenciapopulációt.



referenciaértéke(ke)t határozunk meg a referenciamintákból

A referenciaérték a referenciaegyén mintájából az adott analit kvantitatív mérési eredménye.



referenciaeloszlás a referenciaérték(ek) tekintetében figyelhető meg

A referenciaeloszlás a mért értékek statisztikai eloszlását jelenti.



referenciahatárok képzése a referenciaeloszlásból

Statisztikai megfontolások, megadott valószínűség alapján állapítható meg a referenciaeloszlásból.



referencia intervallum a referenciahatárok alapján definiálható

A referenciaintervallum a referenciahatárok által bezárt értéktartomány. Legtöbbször úgy állapítjuk meg, hogy a minták 95%-ának analíziseredménye a határokon belül található. Általános szabály szerint az eredmények 2,5%-a a referenciaintervallum alatt, 2,5%-a pedig a referenciaintervallum felett található.

- KLEIN, G.: Creation of the necessary analytical quality for generating and using reference intervals. *Clin. Chem. Lab. Med.* 42(7):851–857, 2004.
- MERLINI, G.: Standardizing plasma protein measurements worldwide: a challenging enterprise. *Clin. Chem. Lab. Med.* 48(11):1567–1575, 2010.
- MYRON JOHNSON, A.: Necessity for high-quality reference materials in the harmonization of laboratory assays. *Clin. Chem. Lab. Med.* 48(6):747–748, 2010.
- PANTEGHINI, M.: Standardization in laboratory medicine: New challenges. *Clinica Chimica Acta* 355:1–12, 2005.
- PANTEGHINI, M.: Traceability as a unique tool to improve standardization in laboratory medicine. *Clinical Biochemistry* 42:236–240, 2009.
- PETERSEN, H.: Reference values: from philosophy to a tool for laboratory medicine. *Clin. Chem. Lab. Med.* 42(7):686–691, 2004.
- THIENPONT, L. M.: Traceability to a common standard for protein measurements by immunoassay for in-vitro diagnostic purposes. *Clinica Chimica Acta* 411:2058–2061, 2010.
- WHO International Biological Reference preparations, http://www.who.int/bloodproducts/ref_materials/
- ZEGERS, I.: Development and preparation of a new serum protein reference material: feasibility studies and processing. *Clin. Chem. Lab. Med.* 48(6):805–813, 2010.
- ZEGERS, I.: Characterisation of the new serum protein reference material ERM-DA470k/IFCC: value assignment by immunoassay. *Clin. Chem.* 56:1880–1888, 2010.
- <http://physics.nist.gov/cuu/Units/prefixes.html>
- <http://web.inc.bme.hu/fpf/kemszam/alapegysegek.html>
- <http://www.bipm.org/en/committees/jc/jctlm/>
- <http://www.bipm.org/en/bipm/mou/jctlm.html>
- <http://www.bipm.org/jctlm/>
- <http://www.westgard.com/biodatabase1.Htm>

