

ΣΤΟΧΟΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΣΤΟ ΚΛΙΝΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ: ΕΙΝΑΙ ΑΡΚΕΤΟΣ Ο ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΒΕΒΑΙΟΤΗΤΑΣ ;

Παπανδρέου Α., Λυκόκα Ε., Μπένου Ν., Πουλάκη Ε., Πρίγκος Ν., Πιπεράκη Κ., Κούρτη Ν.
και Σταθάκη-Φερδερίγου Α.

Βιοχημικό εργαστήριο, ΑΟΝΑ «Άγιος Σάββας», Αθήνα
e-mail:zispap@tee.gr

Περίληψη

Σύμφωνα με το πρότυπο ISO 15189, τα κλινικά εργαστήρια πρέπει να γνωρίζουν την αβεβαιότητα των αποτελεσμάτων των μετρήσεων τους, ώστε να είναι σε θέση να εκτιμήσουν την καταλληλότητα των εφαρμοζόμενων μεθόδων στην κλινική πράξη. Ο προσδιορισμός της αβεβαιότητας μπορεί να γίνει με τις οδηγίες που αναγράφονται στο GUM, όμως, δεν είναι πάντοτε μια απλή διαδικασία. Πολύ συχνά, μια από τις βασικές απαιτήσεις του GUM, η διόρθωση του συστηματικού σφάλματος (bias) πριν τον υπολογισμό της αβεβαιότητας δεν είναι δυνατό να ικανοποιηθεί, είτε επειδή δεν υπάρχει μέθοδος αναφοράς για τη μέτρηση μιας συγκεκριμένης ουσίας είτε γιατί δεν υπάρχει αντίστοιχο πρότυπο στην κορυφή της αλυσίδας της ιχνηλασιμότητας.

Οποσδήποτε, ο προσδιορισμός της αβεβαιότητας από μόνος του δεν εξασφαλίζει την ποιότητα ενός αποτελέσματος. Μπορεί να είναι μόνο ένα μέτρο για το πόσο καλό ή κακό είναι ένα αποτέλεσμα, συγκρινόμενο με ένα όριο αβεβαιότητας για τη μετρούμενη ποσότητα, στη δεδομένη εφαρμογή. Στη βιβλιογραφία παρουσιάζονται σποραδικά τέτοια όρια αβεβαιότητας και για ελάχιστες από τις μετρούμενες ουσίες σε ένα κλινικό εργαστήριο.

Αντίθετα, έχει δημιουργηθεί ένα ολόκληρο πλαίσιο που βασίζεται στο ολικό σφάλμα και τις συνιστώσες του, με στόχο να ελεγχθεί η αναλυτική ποιότητα. Σ' αυτό το πλαίσιο κινούνται όλα τα συστήματα εξωτερικού ελέγχου ποιότητας, αλλά και ο εσωτερικός έλεγχος ποιότητας. Ακόμα και οι βάσεις δεδομένων με στόχους που σχετίζονται με τη βιολογική μεταβλητότητα χρησιμοποιούν τους όρους τυχαίο, συστηματικό και ολικό σφάλμα

Στην παρούσα εργασία θα παρουσιαστούν πέρα από την αβεβαιότητα, δύο ακόμα προσεγγίσεις για τον ορισμό στόχων αναλυτικής ποιότητας που διαφέρουν στο τρόπο με τον οποίο γίνεται η μαθηματική επεξεργασία των αποτελέσματα των μετρήσεων. Στην μια προσέγγιση συνδυάζονται γραμμικά το συστηματικό σφάλμα και ένα πολλαπλάσιο της τυπικής απόκλισης που προκύπτει από τον έλεγχο της αναπαραγωγιμότητας της μεθόδου. Στην δεύτερη, για το συνδυασμό συστηματικού σφάλματος και τυπικής απόκλισης χρησιμοποιείται η διακύμανση της ρίζας του αθροίσματος των τετραγώνων τους (root mean square deviation), ως ποσοστό της τιμής στόχου. Τα αποτελέσματα της εφαρμογής των τριών μοντέλων στις μετρήσεις του εργαστηρίου θα παρουσιαστούν και θα συζητηθεί η καταλληλότητά τους στον καθορισμό των στόχων αναλυτικής ποιότητας.

Λέξεις-Κλειδιά: κλινική χημεία, στόχοι ποιότητας, ολικό σφάλμα, αβεβαιότητα

Abstract

According to ISO 15189 standard clinical laboratories should determine the uncertainty of results, where relevant and possible. Although the Guide to the expression of Uncertainty

in Measurement (GUM) describes the basic theory and rules for uncertainty estimation, the application of uncertainty concept in clinical chemistry lab is not always an easy task. In the current study, the total error model with the linear combination of bias and imprecision as well as the root mean square deviation approach which combines the squares of bias and imprecision will be presented and their role in setting analytical quality goals will be discussed.

Keywords: clinical chemistry, quality specifications, total error, uncertainty

1. Εισαγωγή

Τα κλινικά εργαστήρια όπως και τα περισσότερα χημικά εργαστήρια εκτιμούν την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων τους με όρους αναλυτικής ακρίβειας, ελέγχοντας την πιστότητα και την ορθότητα των μεθόδων τους με διαδικασίες εσωτερικού και εξωτερικού ελέγχου ποιότητας. Το πρόβλημα προκύπτει όταν τα αποτελέσματα των ελέγχων πρέπει να συγκριθούν με κάποιες τιμές-στόχους. Πώς πρέπει να οριστούν αυτές οι τιμές-στόχοι, που είναι ταυτόχρονα στόχοι αναλυτικής ποιότητας, έτσι ώστε να εξασφαλιστεί η καλύτερη απόδοση του εργαστηρίου στο περιβάλλον που λειτουργεί;

Το 1999 σε ένα διεθνές συνέδριο στη Σουηδία συμφωνήθηκαν οι προτεραιότητες με τις οποίες θα έπρεπε να τεθούν οι στόχοι ποιότητας στην εργαστηριακή ιατρική. «Η ιεράρχηση του Συνεδρίου της Στοκχόλμης», όπως συχνά αναφέρεται στη βιβλιογραφία, (Kennedy et al., 1999) τοποθετεί τους διάφορους τρόπους προσέγγισης ως προς τη σημαντικότητά τους με την εξής σειρά:

1. Αξιολόγηση της επίδρασης που έχει η αναλυτική απόδοση στις κλινικές αποφάσεις για μια δεδομένη κατάσταση
2. Αξιολόγηση της επίδρασης που έχει η αναλυτική απόδοση σε επίπεδο κλινικών αποφάσεων, γενικά. Σ' αυτήν την περίπτωση αξιολογούνται δεδομένα που βασίζονται στη βιολογική μεταβλητότητα ή δεδομένα που προκύπτουν από έρευνες των απόψεων των κλινικών για τα «ανεκτά» όρια μεταβολής των εργαστηριακών παραμέτρων
3. Δημοσιευμένες συστάσεις από εθνικούς και διεθνείς αρμόδιους φορείς ή ακόμα και από τοπικές ομάδες ειδικών
4. Στόχοι απόδοσης που ορίζονται από ρυθμιστικά όργανα ή διοργανωτές διεργασιών ελέγχων ποιότητας.
5. Στόχοι που προκύπτουν από τις τρέχουσες εξελίξεις στην εργαστηριακή τεχνολογία οι οποίες έχουν αποτυπωθεί στα αποτελέσματα διεργασιών ελέγχων ή σε δημοσιευμένες εργασίες πάνω στη μεθοδολογία.

Η πρώτη προσέγγιση, αν και η σημαντικότερη, είναι αυτή που εφαρμόζεται πιο δύσκολα. Κι αυτό γιατί λίγες εξετάσεις χρησιμοποιούνται αποκλειστικά στην εκτίμηση κλινικών καταστάσεων και υπάρχει για αυτές απόλυτη αντιστοίχιση ανάμεσα στο αποτέλεσμα τους και στην ιατρική στρατηγική που θα ακολουθηθεί.

Μέχρι σήμερα, η τακτική που βασίζεται στη χρήση δεδομένων βιολογικής μεταβλητότητας παρουσιάζει το μεγαλύτερο ενδιαφέρον γιατί εισάγει ένα βιολογικό περιορισμό στον ορισμό των στόχων ποιότητας. Επιπλέον, η ύπαρξη ενός εκτεταμένου καταλόγου με δεδομένα για τη βιολογική μεταβλητότητα πολλών παραμέτρων που μετρούνται στα κλινικά εργαστήρια (Ricos et al, 1999), καθώς και η διαρκής ανανέωσή του (www.westgard.com/biodatabase1.htm), κάνει εύκολη την εφαρμογή της.

2. Το ολικό σφάλμα στον ορισμό των αναλυτικών στόχων ποιότητας

Με τον όρο ολικό σφάλμα (TE) περιγράφεται το άθροισμα του συστηματικού και του τυχαίου σφάλματος. Συνήθως, εκφράζεται με την εξίσωση:

$$TE = \text{bias} + k \times s \quad (1)$$

όπου, το bias είναι η ποσοτική εκτίμηση του συστηματικού σφάλματος, η τυπική απόκλιση, s, είναι το μέτρο του τυχαίου σφάλματος και ο συντελεστής κάλυψης, k, καθορίζει το επίπεδο εμπιστοσύνης.

Η έννοια του ολικού σφάλματος έχει καθιερωθεί στην κλινική χημεία και είναι πολύ χρήσιμη, τόσο στην επικύρωση ή την επαλήθευση των αναλυτικών μεθόδων, όσο και στην παρακολούθηση της απόδοσής τους σε καθημερινή βάση μέσα στο εργαστήριο ή σε διεργαστηριακούς ελέγχους (Westgard, 2010).

Εκείνο που κυρίως ενδιαφέρει είναι η ανώτατη επιτρεπτή τιμή (TEa), που μπορεί να έχει το ολικό σφάλμα μιας μέτρησης, ώστε το αποτέλεσμα να θεωρείται αποδεκτό. Το TEa μπορεί να χρησιμεύσει ως βάση για τον καθορισμό προδιαγραφών ποιότητας για όλους τους εμπλεκόμενους στο χώρο της Κλινικής Χημείας, από το κλινικό εργαστήριο μέχρι τους κατασκευαστές αντιδραστηρίων και αναλυτικών συστημάτων ή ακόμα και τους ειδικούς που διαμορφώνουν κλινικές οδηγίες.

Χρησιμοποιώντας το πλαίσιο της βιολογικής μεταβλητότητας, είναι δυνατό να οριστούν στόχοι αναλυτικής ποιότητας, με το TEa ως κριτήριο, σε 3 επίπεδα:

ελάχιστο, στο οποίο $TEa \leq 1,65(0,75 CV_w) + 0,375(CV_w^2 + CV_g^2)^{1/2}$

επιθυμητό, στο οποίο $TEa \leq 1,65(0,50 CV_w) + 0,250(CV_w^2 + CV_g^2)^{1/2}$ και

βέλτιστο, στο οποίο $TEa \leq 1,65(0,25 CV_w) + 0,125(CV_w^2 + CV_g^2)^{1/2}$

όπου, CV_w και CV_g είναι συντελεστές μεταβλητότητας που προκύπτουν από την ενδοατομική και διατομική βιολογική μεταβλητότητα, αντίστοιχα.

3. Ο υπολογισμός της αβεβαιότητας ως στόχος ποιότητας

Το πρότυπο ISO 15189 αναφέρει πως το εργαστήριο πρέπει να υπολογίζει την αβεβαιότητα των μετρήσεων του, όπου χρειάζεται και είναι δυνατό. Το βασικό κείμενο αναφοράς για τον τρόπο προσδιορισμού της αβεβαιότητας είναι ο Οδηγός για την έκφραση της αβεβαιότητας των μετρήσεων (GUM), στον οποίο προτείνεται το από «κάτω προς τα πάνω» μοντέλο υπολογισμού.

Σύμφωνα με αυτό, σε πρώτη φάση επιλέγεται μια μαθηματική εξίσωση-μοντέλο που αναπαριστά την μετρητική διαδικασία και στη συνέχεια, μέσω αυτής, εντοπίζονται όλες οι πηγές διακύμανσης του αποτελέσματος της μέτρησης. Το επόμενο βήμα είναι να οριστεί ποσοτικά η συνεισφορά κάθε μιας από αυτές της πηγές αβεβαιότητας στη συνολική αβεβαιότητα. Σ' αυτό το στάδιο αξιοποιούνται δεδομένα που έχουν προκύψει από τις μελέτες επικύρωσης ή επαλήθευσης των μεθόδων, πληροφορίες ή πιστοποιητικά που παρέχονται από τους κατασκευαστές του εξοπλισμού και των αντιδραστηρίων ή ακόμα και στοιχεία από τη βιβλιογραφία. Ανεξάρτητα από την προέλευση τους ή τον τρόπο προσδιορισμού τους, οι διάφορες συνιστώσες της αβεβαιότητας συνδυάζονται με τη μορφή τυπικών αβεβαιοτήτων για να δώσουν ως αποτέλεσμα τη συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα. Χαρακτηριστικά παραδείγματα υπολογισμού της αβεβαιότητας με την χρήση αυτής της μεθόδου αναφέρονται στη βιβλιογραφία από τους Kristiansen (2001) και Linko et al. (2002) και στον οδηγό EURACHEM/CITAC 2000.

Η επιλογή του μαθηματικού μοντέλου δεν είναι πάντοτε μια εύκολη διαδικασία, επειδή σ' αυτό πρέπει να συμπεριληφθούν όλες οι παράμετροι που επηρεάζουν το αποτέλεσμα της μέτρησης. Αν το μοντέλο δεν είναι πλήρες, η αβεβαιότητα υποτιμάται. Επιπλέον, για ορισμένες συνιστώσες της αβεβαιότητας όπως είναι, για παράδειγμα, η αλλαγή της

παρτίδας των αντιδραστηρίων, είναι δύσκολο να γίνει ποσοτική εκτίμηση, ενώ για άλλες, είναι πιθανό να γίνει λάθος εκτίμηση.

Πάντως, η διαδικασία που προτείνεται στο GUM δεν είναι μοναδική. Στη βιβλιογραφία αναφέρονται και κάποιες πιο πρακτικές προσεγγίσεις υπολογισμού της αβεβαιότητας, «από πάνω προς τα κάτω». Σ' αυτές, για την εκτίμηση της αβεβαιότητας συνδυάζονται η εκτίμηση της πιστότητας και της ορθότητας της μεθόδου, οι οποίες με τη σειρά τους προκύπτουν είτε από δεδομένα ενδοεργαστηριακών μελετών είτε από συμμετοχή σε διεργαστηριακά προγράμματα ελέγχου ποιότητας. Αν και οι μέθοδοι αυτοί χαρακτηρίζονται «εμπειρικές», θεωρούνται εξίσου έγκυρες επειδή βρίσκονται μέσα στο πνεύμα του GUM, (EUROLAB Technical Report 1/2007).

Η μεγαλύτερη όμως δυσκολία στην εφαρμογή των αρχών του GUM στο εργαστήριο κλινικής Χημείας είναι η απαίτηση για αναγνώριση και κυρίως διόρθωση των συστηματικών αποκλίσεων. Αυτό σημαίνει πως το εργαστήριο θα πρέπει να έχει διαθέσιμα κατάλληλα πιστοποιημένα υλικά αναφοράς, που ο τύπος τους και η αναλυτική τους συμπεριφορά να είναι παρόμοια με τα βιολογικά δείγματα που αναλύονται. Ή, σε μια εναλλακτική εκδοχή, κάθε μέθοδος που εφαρμόζεται στο εργαστήριο θα πρέπει να συγκρίνεται με μια μέθοδο αναφοράς χρησιμοποιώντας τα ίδια βιολογικά δείγματα των ασθενών.

4. Η μέση τετραγωνική απόκλιση των μετρήσεων στον ορισμό των αναλυτικών στόχων

Σε αυτή τη σχετικά νέα προσέγγιση, το συστηματικό και το τυχαίο σφάλμα ενοποιούνται κάτω από μια παράμετρο που ονομάζεται και μέση τετραγωνική απόκλιση (root mean square of the deviation) και μέσω αυτής ορίζονται οι αναλυτικοί στόχοι (Macdonald 2006, Macdonald 2007).

Οι μετρήσεις και οι υπολογισμοί βασίζονται στην ανάλυση δειγμάτων ορού εσωτερικού ελέγχου ποιότητας γνωστής συγκέντρωσης. Όπως είναι γνωστό, μέτρο της τυχαίας διακύμανσης των μετρήσεων είναι η τυπική απόκλιση (s):

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (2)$$

όπου, το x_i παριστάνει το αποτέλεσμα κάθε μέτρησης και \bar{x} είναι ο μέσος όρος των αποτελεσμάτων των n μετρήσεων του ορού ελέγχου.

Η συστηματική απόκλιση των μετρήσεων (δ) δίνεται από τη σχέση:

$$\delta = \bar{x} - x_o \quad (3)$$

όπου x_o είναι η τιμή που αποδίδεται στον ορό ελέγχου από τον κατασκευαστή του.

Η συνολική απόκλιση των μετρήσεων (Δ) μπορεί να οριστεί με ανάλογο τρόπο όπως η τυπική απόκλιση, ως η τετραγωνική ρίζα του αθροίσματος των τετραγώνων των διαφορών από την τιμή στόχο:

$$\Delta = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - x_o)^2} \quad (4)$$

Με τη βοήθεια των σχέσεων (2) και (3), η εξίσωση (4) μπορεί να μετασχηματιστεί έτσι ώστε να διακρίνεται ευκολότερα η σχέση ανάμεσα στην απόκλιση Δ και το τυχαίο και συστηματικό σφάλμα, όπως αυτά ποσοτικοποιούνται με το s και το δ :

$$\Delta = \sqrt{\frac{n-1}{n} s^2 + \delta^2} \quad (5)$$

Συνήθως, η ολοκλήρωση του εσωτερικού ελέγχου ποιότητας γίνεται με σύγκριση του s και του δ με κάποιες ανώτατες επιτρεπτές τιμές για το τυχαίο και συστηματικό σφάλμα, ε_s και ε_δ , αντίστοιχα. Πρέπει να ισχύει:

$$s \leq \varepsilon_s \quad (6) \text{ και } \delta \leq \varepsilon_\delta \quad (7)$$

Αν στην εξίσωση (5) τα s και δ αντικατασταθούν με τα όρια τους προκύπτει ένα ανώτατο όριο για τη συνολική απόκλιση, ε_Δ , για το οποίο ισχύει:

$$\Delta \leq \varepsilon_\Delta = \sqrt{\frac{n-1}{n} \varepsilon_s^2 + \varepsilon_\delta^2} \quad (8)$$

Επομένως, η μέγιστη απόκλιση ε_Δ έτσι όπως προκύπτει ως συνδυασμός των ε_s και ε_δ , μπορεί να χρησιμεύσει ως η μοναδική παράμετρος εκτίμησης της αναλυτικής ποιότητας των αποτελεσμάτων.

Ο Macdonald μάλιστα, στο άρθρο του προτείνει την επέκταση της εφαρμογής του ίδιου ορίου εκτός από τον αναδρομικό και στον καθημερινό έλεγχο ποιότητας του εργαστηρίου. Δηλαδή, το αποτέλεσμα κάθε ξεχωριστής μέτρησης ορού ελέγχου πρέπει να ικανοποιεί τη σχέση (8):

$$|x_i - x_o| \leq \sqrt{\frac{n-1}{n} \varepsilon_s^2 + \varepsilon_\delta^2}$$

Εισάγεται λοιπόν ένας κανόνας ελέγχου που περιλαμβάνει τόσο το τυχαίο όσο και το συστηματικό σφάλμα και ο οποίος είναι δυνατό να εφαρμοστεί άμεσα, αρκεί να είναι ορισμένη η τιμή για το δεύτερο σκέλος της εξίσωσης (8).

Τα όρια για τα ε_s και ε_δ μπορεί να παρέχονται από κατάλληλο φορέα, όπως συμβαίνει στην περίπτωση του Ομοσπονδιακής Γερμανικής Ιατρικής Ένωσης, η οποία έχει δημοσιεύσει οδηγίες με τις ελάχιστες προδιαγραφές που πρέπει να καλύπτουν τα αποτελέσματα των ποσοτικών αναλύσεων στα ιατρικά εργαστήρια (Pierson-Perry and Sonntag, 2009). Για όσες εξετάσεις δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία, το εργαστήριο μπορεί να δημιουργήσει τις δικές του ανώτατες επιτρεπτές τιμές, βασιζόμενο στα δεδομένα της αντίστοιχης προαναλυτικής περιόδου, στην οποία χρησιμοποιούνται οροί ελέγχου γνωστής συγκέντρωσης.

Η μέση τετραγωνική απόκλιση παρουσιάζει μια βασική διαφορά σε σχέση με το ολικό σφάλμα, που ίσως είναι και το πλεονέκτημα της: οι συστηματικές και οι τυχαίες αποκλίσεις εκφράζονται ως διακυμάνσεις ανεξάρτητων κατανομών που περιγράφουν την πιθανότητα η μετρούμενη τιμή να βρίσκεται στο πλαίσιο που έχουμε ορίσει για τη μετρητική διαδικασία. Οι διακυμάνσεις των δυο κατανομών συνδυάζονται συμμετρικά (στην εξίσωση (5) ο παράγοντας $(n-1)/n$ είναι 1, για $n > 15$) και τετραγωνική ρίζα του αθροίσματός τους δίνει τη μέση τετραγωνική απόκλιση. Έχουμε δηλαδή, μια προσέγγιση που χρησιμοποιεί τα συστατικά του ολικού σφάλματος, χρησιμοποιώντας τα εργαλεία συνδυασμού των αβεβαιοτήτων που αναφέρονται στο GUM.

Συνοψίζοντας, στο μοντέλο του ολικού σφάλματος γίνεται γραμμικός συνδυασμός του συστηματικού με το τυχαίο σφάλμα, στο μοντέλο της μέσης τετραγωνικής απόκλισης συνδυάζονται τα τετράγωνά τους, ενώ στο μοντέλο της αβεβαιότητας συνδυάζονται περισσότεροι παράγοντες που επηρεάζουν τη μέτρηση, με τη μορφή των αντίστοιχων διακυμάνσεων.

Πάντως, μέχρι σήμερα κανένα από τα παραπάνω μοντέλα δεν έχει επικρατήσει καθολικά, με αποτέλεσμα να δημιουργείται σύγχυση με τα διαφορετικά όρια που εμφανίζονται ως στόχοι ποιότητας.

Βιβλιογραφία

EURACHEM/CITAC GUIDE, "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement" 2nd Edition, 2000

EUROLAB Technical Report No 1, "Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation", 2007

Kenny D., Fraser C.G., Hyltoft Petersen P. and Kallner A. "Consensus agreement" Scand J Clin Lab Invest 1999; 59 585-586

Kristiansen J. "Description of a Generally Applicable Model for the Evaluation of Uncertainty of Measurement in Clinical Chemistry" Clin.Chem.Lab.Med. 39(10) p.p. 920-931, 2001

Linko S., Örnemark U., Kessel R. and Taylor P. "Evaluation of Uncertainty of Measurement in Routine Clinical Chemistry-Applications to Determination of the Substance Concentration of Calcium and Glucose in Serum" Clin.Chem.Lab.Med. 40(4) p.p. 391-398, 2002

Macdonald R. "Quality assessment of quantitative analytical results in laboratory medicine by root mean square of measurement deviation" J. Lab.Med. 30(3) p.p.111-117, 2006

Macdonald R. "Reply to Haeckel and Wosniok: Root mean square of measurement deviation for quality assessment of quantitative analytical results in laboratory medicine compared to total error concepts" J. Lab.Med. 31(2) p.p.90-91, 2007

Pierson-Perry J. and Sonntag O. "Rilibak: Quality goals the German way" www.westgard.com/rilibak-2.htm, 2009

Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M. "Current databases on biologic variation: pros, cons and progress." Scand J Clin Lab Invest 59 p.p. 491-500, 1999

Westgard J. "Managing quality vs. measuring uncertainty in the medical laboratory" Clin.Chem.Lab.Med. 48(1) p.p. 31-40, 2010