

## Stav standardizace stanovení katalytické koncentrace alkalické fosfatázy z pohledu různých programů externích hodnocení kvality. Názor na situaci a její řešení.

P. Sedlák<sup>1</sup>, B. Friedecký<sup>2</sup>, J. Kratochvíla<sup>2</sup>, M. Budina<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Oddělení klinické biochemie, Městská nemocnice Čáslav

<sup>2</sup> SEKK Pardubice

### SOUHRN

Výsledky externího hodnocení kvality ukazují nedobrou úroveň harmonizace měření. Závislost na použité metodě (testovací soupravě) je velká bez ohledu na typ matrice použitého kontrolního materiálu (séra individuálních dárců, směs nativních sér, lyofilizované materiály). Příčina je obvyklá - nízká četnost metod s návazností na IFCC referenční metodu z roku 2011 [3]. V dokumentaci řady metod je zaměněna skutečná IFCC referenční metoda 2011 za již dávno neplatnou „referenční“ metodu, ustanovenou v roce 1983 pro inkubační teplotu 30°C [1]. Problémy s nízkou úrovní harmonizace výsledků ALP jsou dále prohlubovány faktem, že řada výrobců dodává na trh navíc zcela obsoletní metody, zejména pak s dietanolaminovým pufrům. Za těchto podmínek jsou poskytovány výsledky nesrovnatelné. Problém s nízkou úrovní harmonizace výsledků vedl k dočasnému vyřazení metod ALP z procesu přidělování certifikátů SEKK klinickým laboratořím.

Program standardizace měření ALP v současnosti sice pomalu, ale soustavně pokračuje. Naše sdělení tento proces komentuje a dokumentuje. Zabývali jsme se problémy kalibrace metod odvozených z referenční metody IFCC 2011 a uvádíme nezbytné podmínky k dosažení potřebné úrovně harmonizace výsledků měření ALP.

*Klíčová slova:* Alkalická fosfatáza, standardizace, referenční metoda, rutinní metody, harmonizace.

### SUMMARY

**P. Sedlák, B. Friedecký, J. Kratochvíla, M. Budina: State of standardization for determination of catalytic concentration of alkaline phosphatase as viewed by different programs of external quality control: Our view of the situation and its solution.**

Results obtained in external quality assessment programs show low level of harmonization and comparability in ALP measurement. Dependency of results on the used method/reagent kits are enormous in cases of all types matrices of control samples (individual donor samples, native pool sera, lyophilised sera). Reason of this situation is usual - small number of methods with traceability to IFCC reference method 2011 [3]. Documentation of many methods from many manufacturers systematically confuses real and approved IFCC method 2011 with so called and not valid “reference” method from 1983, developed originally for incubation temperature 30°C [1]. Problems with the lack of harmonization are very strongly deteriorated by use of non-standardized and fully obsolete methods with DEA buffer. These methods give very different results from methods with AMP buffer and are still on the marketplace. Mentioned problems lead us to interim interruption of certificate process in external quality assessment program SEKK for ALP. Nevertheless standardization process for ALP slowly continues and our communication comments and documents this process. We dealt with calibration problems of routine methods for ALP based on the reference method 2011 [1]. We propose some tools for achievement of necessary level of harmonization of ALP measurement results.

*Keywords:* Alkaline phosphatase, standardization, reference method, routine measurement, harmonization.

### Kontroverze kolem referenční metody IFCC ke stanovení katalytické koncentrace alkalické fosfatázy (ALP)

Původně byla referenční metoda stanovení ALP IFCC vyvinuta pro tehdy platnou inkubační teplotu 30°C v roce 1983 [1, 2]. Dále ji uvádíme jako „IFCC“. Až v roce 2011 byla publikována G. Schumannem a spol. v rámci enzymové pracovní skupiny IFCC (C-RSE) nová IFCC referenční metoda pro stanovení ALP pro teplotu 37°C [3] – dále „IFCC 2011“, a ta byla celosvětově akceptována.

V dokumentaci řady výrobců testovacích souprav je však po mnoho let, často až dosud, uváděna metodologická návaznost na referenční metodu původní,

z roku 1983. To vede k nemožnosti použít při hodnocení výsledků EHK (externího hodnocení kvality) vzájemných hodnot, návazných na referenční metodu IFCC 2011 a nutí to k hodnocení výsledků měření účastníků podle středních hodnot jednotlivých testovacích souprav. Skupiny často nemohou být diskriminovány ani podle výrobců, kteří nezdědky distribuují na trh více druhů vzájemně nesrovnatelných metod a souprav (viz například v programu SEKK rozdíl při stanovení ALP mezi skupinou Beckman Coulter a skupinou Olympus). Při proměnlivosti stavu trhu, typů souprav, analytické instrumentace a různých názvů souprav a metod v čase vede takový stav k nemožnosti posouzení srovnatelnosti výsledků u pacientů, k problémům při klinickém hodnocení výsledků a k zvyšování rizika péče o pacienty.

## Rutiní metody, označované výrobci a laboratoři jako „IFCC“ vykazují velké vzájemné diference

V Tabulce 1 jsou uvedeny intervaly parametrů složení reakčních směsí a reakčních časů různých výrobců a různých souprav. V závorce je pak uvedeno složení IFCC 2011 referenční metody [3].

Rozdíly ve složení reakční směsi jsou nejvýraznější u koncentrací pufru AMP, rozdíly v časech pak u preinkubace. Experimentálně jsme ověřili, že pětinašobně prodloužená doba preinkubace rutinních metod vůči metodě referenční neovlivnila výsledky měření (potenciální termolabilita kostní frakce ALP se neprojevila).

Kombinovaným důsledkem rozdílu ve složení reagentů a nevyřešené standardizace u metod s AMP (2-amino-2-metyl-1-propanol) jsou významné diference mezi metodami různých výrobců, zjišťované v programech EHK.

**Table 1:** Parameters of ALP methods signed by manufacturers and labs as „IFCC method“ (in parentheses parameters of IFCC 2011 reference method)

2-amino-2-metyl-1-propanol (AMP) (mmol/l)	280 – 900 (IFCC 750)
Mg acetate (mmol/l)	1.6 – 2.0 (IFCC 2.0)
Zn sulphate (mmol/l)	0.4 – 1.0 (IFCC 1.0)
HEDTA (mmol/l)	1.7 – 2.0 (IFCC 2.0)
4-nitrophenyl phosphate (4-NPP) (mmol/l)	13.0 – 16.0 (IFCC 16)
pH (37°C)	10.1 – 10.3 (IFCC 10.2 ± 0.05)
Preincubation (s)	60.0 – 300.0 (IFCC 60)
Delay time (s)	60.0 - 90.0 (IFCC 90)
Measurement interval (s)	54.0 – 216.0 (IFCC 120)

## Má referenční metoda IFCC 2011 dostatečnou robustnost? [3]

Níže uvedené vlivy, které jsou převzaté z textu publikace o referenční metodě stanovení ALP 2011 [3], mohou nepříznivě ovlivnit i z ní vycházející rutinní metody měření, jejich vzájemnou srovnatelnost, mohou je činit zranitelnými i při malých změnách reakčních podmínek u reagentů různých výrobců a zejména mohou ztížit tvorbu příslušných certifikovaných referenčních materiálů:

- rychlost katalytické reakce ALP není lineární a závisí na typu (matrici) vzorků a vlastní katalytické koncentraci ALP
- nastavení hodnoty pH je rovněž závislé na typu (matrici) vzorku
- výsledky měření jsou závislé na změnách dob prodloužení
- nežádoucí je vliv CO<sub>2</sub> na hodnoty pH reakční směsi
- u některých vzorků se zvyšuje katalytická koncentrace ALP v čase

- vlivem vysoké koncentrace pufru AMP a následné hustoty reakční směsi může i nedostatečné promíchání negativně ovlivnit kvalitu výsledků měření.

Tabulka 2 ukazuje, že při kalibraci IFCC metod (Siemens a pokusná šarže Erba - Lachema) mohou být hodnoty bias až trojnásobné ve srovnání s hodnotami, dosaženými kalibrací sérovým kalibrátorem (referenčním materiálem IFCC-RELA). Sérová matrice komutabilního kalibrátoru patrně kompenzuje faktory nižší robustnosti (viz výše uvedená poznámka o závislosti linearit katalytické reakce na typu matrice).

## Externí hodnocení kvality měření ALP v pěti programech

### 1. EHK SEKK 2014 [4]

Výsledky stanovení ALP v EHK SEKK v roce 2014 demonstruje tabulka 3 a obr. 1. Bylo vyhodnoceno 6

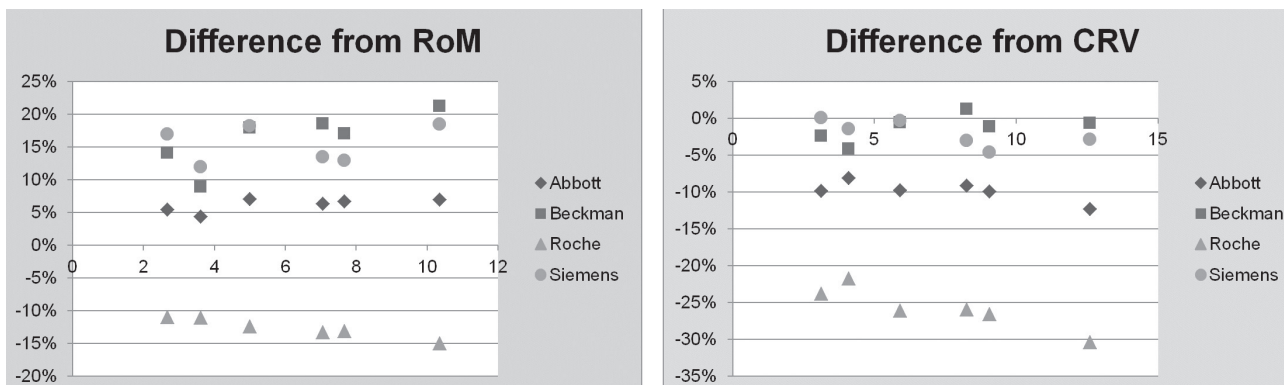
vzorků v širokém rozsahu hodnot ALP od 3,1 µkat/l po 12,6 µkat/l ALP a v časovém intervalu únor až září 2014. Rozdíly mezi metodami přetrvávají dlouhodobě a jsou v čase stabilní, jak je typické pro diference, vznikající různou úrovní kalibrace.

Situaci dobře demonstruje obr. 1. Metody a soupravy Siemens disponovaly již na počátku roku 2014 kalibrátory/faktory, metrologicky návaznými na referenční metodu IFCC 2011 [3] a díky tomu vykázaly nízkou hodnotu bias vůči referenční hodnotě, ne však vůči robustnímu průměru RoM, jehož hodnoty jsou nepříznivě ovlivněny ostatními, na metodu IFCC 2011 dosud nestandardizovanými metodami.

Bias souprav a analytických systémů Siemens (b < 5 %) v EHK SEKK v roce 2014 již odpovídá metrologické návaznosti na metodu ALP IFCC 2011, bias u souprav a analytických systémů Roche (b přesahující -20 %) odpovídá tomu, že metoda nebyla v té době na ALP IFCC 2011 metrologicky návazná, respektive v srpnu 2014 publikovaná restandardizace [10] se prakticky neprojevila. To souhlasí i s údaji výrobců. Nemáme zatím dostatečné

**Table 2:** Bias of Erba Lachema (in home prepared by manufacturer) and Siemens methods, based on the IFCC 2011 method

Calibrator	Interval of values (µkat/l)	b (%)
4-nitrophenol	7.14 – 7.89	10.0
IFCC RELA reference materiál (serum)	3.15 – 12.5	-1.2 to 2.2



**Fig 1.** Systematic differences of manufacturers group means from reference values in EQA program SEKK AKS 2014  
 RoM = robust mean calculated according to ISO 13528  
 CRV = certified reference value traceable to IFCC 2011 reference method

informace od výrobců Abbott a Beckman. Pozoruhodná (a shodná s níže uvedenými výsledky programu Empower) je grafika výsledků, jasně signalizující svou horizontálností různé úrovně kalibrace různých metod.

## 2. EHK Referenzinstitut für Bioanalytik (RfB) - Germany 2014 (KS 5/14; [5])

Rozdíly mezi průměry stejnorodých skupin metod v EHK RfB byly i v pátém cyklu roku 2014 stále ještě značné, odpovídající nevyřešenému stavu standardizace:

Vzorek A: 3,10 - 4,50  $\mu\text{kat/l}$  ALP

Vzorek B: 5,85 - 9,30  $\mu\text{kat/l}$  ALP

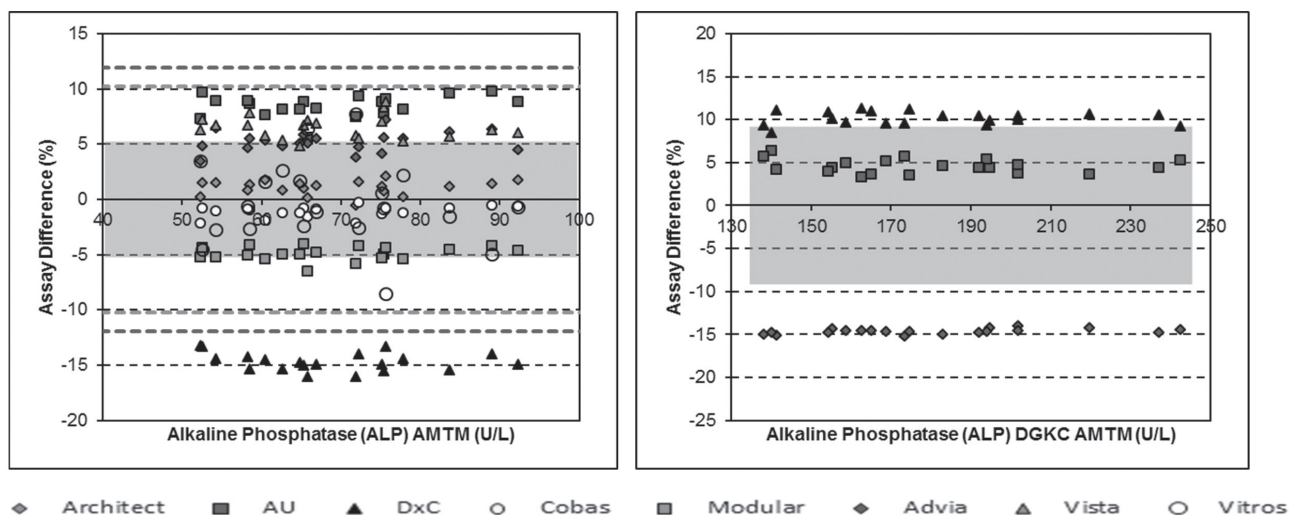
Patrně díky komutabilnímu kalibrátoru Siemens s metrologickou návazností na referenční metodu IFCC 2011 byly však již dobře vzájemně srovnatelné výsledky měření metod Siemens (Vista, Dimension ExL, Dimension RxL), včetně metody Siemens (Bayer ADVIA) s excelentní návazností realizovanou firemním kalibračním faktorem.

## 3. EHK „IFCC“ Master Comparison 2014 [6]

Tohoto experimentu se účastnilo 125 evropských laboratoří, které analyzovaly dvacet vzorků sér individuálních dárců krve, tedy šlo o vzorky s matricí ideálně blízkou rutinním vzorkům pacientů. Všechny hodnoty

ALP byly pod horní hranici referenčního intervalu. Metodu, označovanou hodnotiteli a účastníky jako „IFCC“, dodalo formou testovacích souprav 8 globálních výrobců. Hodnoty bias od AMTM (all manufacturer trimmed mean) byly b = -15% až +10%. Použití robustních průměrů výsledků (RoM) diferenci mezi průměry metod nezlepšilo. Grafické znázornění výsledků (obr. 2) ukazuje, že rozdíly mezi metodami jsou jednoznačně způsobené rozdílnou kalibrací (výsledky různých metod mají grafickou podobu téměř rovnoběžek) a podporuje domněnku, že metody nejsou metrologicky návazné na skutečnou metodu IFCC 2011. Dalším problémem je, že řada laboratoří používá doposud metody s původním puřrem DEA (non IFCC metoda, dříve metoda „DGKC“). Proč doposud výrobci vyrábějí tak obsoletní metodu a proč ji laboratoře používají, je dost nepochopitelné.

Průměr výsledků metody měření s puřrem DEA činil 3,0  $\mu\text{kat/l}$  ALP, průměr výsledků metody s puřrem AMP „IFCC“ pak 1,15  $\mu\text{kat/l}$  ALP. To jsou ovšem extrémní rozdíly. Metodu s puřrem DEA vyráběli tři výrobci, všichni tři ale mají v portfoliu též metodu IFCC. To, že laboratoře požadují obsoletní metodu po výrobcích a svými požadavky ji udržují na trhu, nesevřdí pro fakt, že by znalosti laboratorních pracovníků odpovídaly aktuálním potřebám a stavu.



**Fig 2.** Bias values of methods ALP in project Empower „Master Comparison“ [4]

Bias value of peer group analytical systems from reference (all mean total manufacturers) for IFCC 2011 method and for DGKC (dietanolamine) method

**Table 3:** Bias intervals calculated by reference values obtained by reference IFCC 2011 method in EQA program SEKK AKS 2014

Manufacturer	Bias (%)
Abbott	-12 to -8
Beckman – Coulter	-4 to +1
Siemens Bayer	-5 to 0
Roche	-30 to -22

#### 4. EHK Nizozemsko 2012 - 2013 [7]

Účastníci nizozemského programu EHK (n = 233) uvádějí 86 % až 100 % výsledků měření dosažených s metrologickou návazností na IFCC metody u sedmi standardizovaných stanovení enzymů (ALT, AST, CK, LD, ALP, GGT,  $\alpha$ -AMS). Ve studii bylo použito 12 kontrolních vzorků s komutabilitou ověřenou podle postupu CLSI EP-30A [8]. Navzdory těmto faktům byl u stejnorodé skupiny Roche pro stanovení kat. k. ALP zjištěn bias přesahující - 20 % pro vzorky o katalytické koncentraci přibližně 5 až 6  $\mu\text{kat/l}$  ALP a u skupiny Beckman bias přesahující +20% pro tutéž katalytickou koncentraci ALP. Stejnorodé skupiny Abbott a Siemens zde významnou hodnotu bias nezaznamenaly (obr. 3). Je málo pravděpodobné, že v uvedené době skutečně šlo o metrologickou návaznost všech metod na novou metodu IFCC 2011, nicméně organizátoři a účastníci studie ji takto optimisticky vyhodnotili, i když v té době metrologická návaznost na skutečnou metodu IFCC 2011 [3] nebyla běžně u souprav výrobců k dispozici. Je dále pozoruhodné, jak velmi těsně jsou shodné hodnoty bias u sér pacientů (trojúhelníčky) a kontrolních materiálů (hvězdičky).

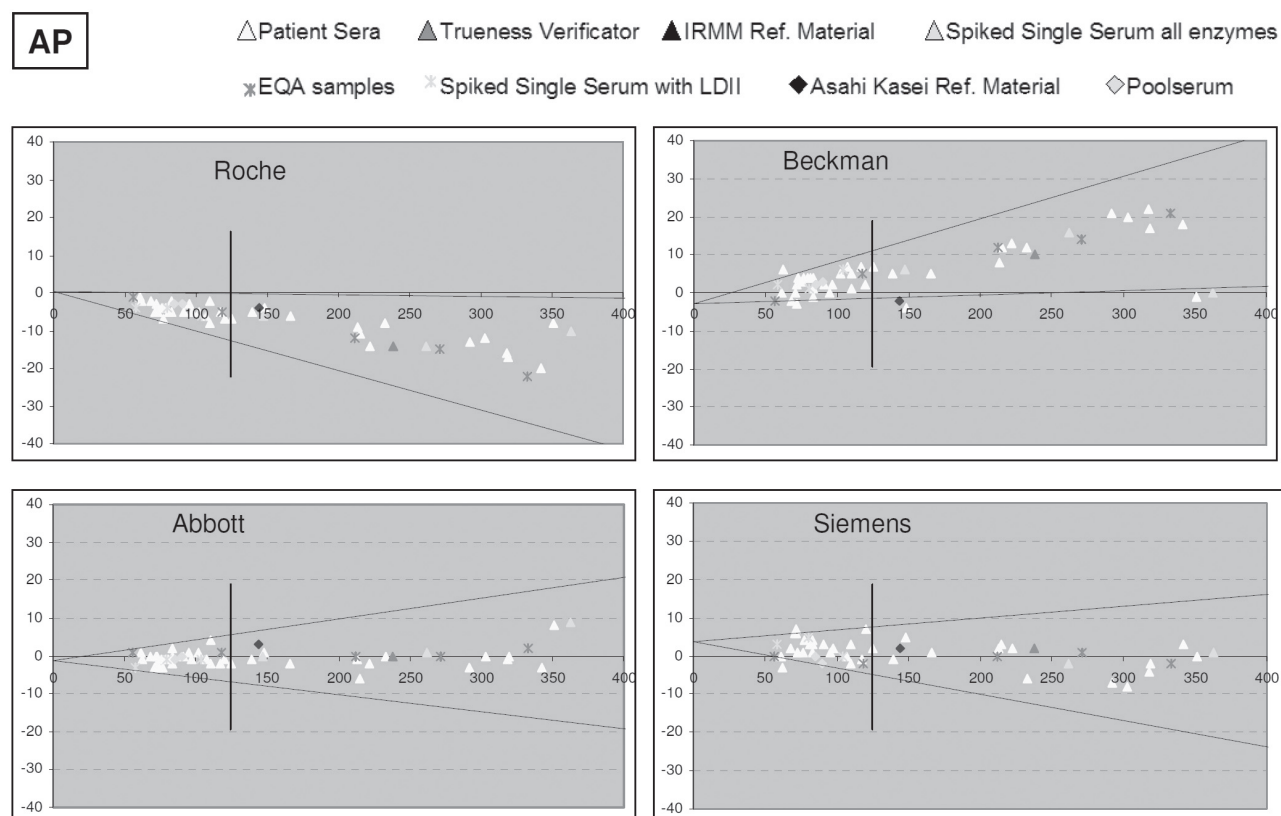
#### 5. EHK Randox - RIQAS 2013

Protokol výsledků měření komerční EHK Randox RIQAS (2013, cyklus 48, vzorek 2), poskytuje názorný a neutěšený pohled na stav harmonizace stanovení ALP v současnosti. Jde o výsledky měření 1391 klinických laboratoří, rozdělených k účelům hodnocení do 12 skupin metod. Sumární výsledky, charakterizující stav měření ALP, jsou uvedeny v Tabulce 4.

Tabulka 4 výmluvně charakterizuje obecný nespokojivý stav standardizace stanovení ALP, ukazuje masovou produkci nestandardizovaných metod výrobců, nízkou srovnatelnost výsledků měření a naprosto formální charakter některých programů EHK, které mohou nanejvýš poskytnout potřebný dokument o účasti, ale žádný obraz o kvalitě výsledků měření, standardizaci, žádné poznatky k edukaci (programy EHK mají mít silný edukační charakter) a poznatky o potřebných korekčních akcích.

#### Program EHK referenčních laboratoří IFCC RELA

Zahrnuje od roku 2011 také výsledky referenčních laboratoří při měření ALP referenční metodou IFCC 2011. Byly zatím vyhodnoceny 3 cykly (2 vzorky ročně, 6 vzorků zatím celkem) v rozmezí katalytických koncentrací 3 až 10  $\mu\text{kat/l}$  ALP. V tabulce 5 jsou stručně uvedeny výsledky za rok 2013. Data IFCC RELA jsou dostupná na adrese [9]. Demonstrují dobrou úroveň mezilaboratorní srovnatelnosti referenčních laboratoří při měření ALP referenční metodou IFCC 2011.



**Fig 3.** Bias values of ALP measurement in the Netherland [5]



**Table 4:** RIQAS ALP 2013. Results, assessed method groups, level of standardization

Number of participants	1391
Number of „IFCC“ method	350
Number of DEA buffer method	139
Number of Dimension systems method	116
Number of assessed groups	12
CV (All) (%)	22
CV (“IFCC“) (%)	11.5
Interval CV (%) for assessed groups	4.8 - 19.1
Interval of assessed group means (μkat/l)	4.1 - 7.9

**Table 5:** IFCC RELA results of ALP reference measurement in 2013

	Number of reference labs	ALP [μkat/l] - median (interval of results)	U <sub>lab</sub> [μkat/l] (median)
Sample A	18	4.0 (3.77 - 4.11)	0.11 (5.75 %)
Sample B	18	2.97 (2.77 - 3.12)	0.08 (2.7 %)

## Problém certifikovaného referenčního materiálu pro stanovení ALP

Je možné připustit, že problémy s robustností metod s AMP puřem jsou zřejmě důvodem, že ani po třech letech existence referenční metody IFCC 2011 není dosud k dispozici příslušný CRM pro stanovení ALP.

U řady referenčních metod měření rutinních enzymů jsou naopak již řadu let takové CRM k dispozici a mohou sloužit jako prostředník v řetězci metrologické návaznosti rutinních metod výrobců k referenční metodě IFCC (ALT, AST, CK, GGT, LD, α-AMS).

## Možnosti kalibračních postupů při měření katalytické koncentrace ALP v rutinní klinické laboratoři

1. Použít komutabilní sérový firemní kalibrátor s metrologickou návazností na referenční metodu „IFCC 2011“
2. Pro ověření nově zaváděné rutinní metody stanovení kat. k. ALP s metrologickou návazností na referenční metodu „IFCC 2011“ použít kontrolní materiály EHK SEKK s hodnotami ALP získanými Referenční laboratoři RfB v Hannoveru a užívanými v kontrolním programu RELA/IFCC.
3. Použít kvalitně stanovený firemní kalibrační faktor pro daný analytický měřicí systém a testovací soupravu, verifikovaný pomocí kontrolních materiálů EHK SEKK, certifikovaných Referenční laboratoři RfB Hannover.
4. Nedoporučuje se používat ke kalibraci stanovení ALP komerčními soupravami standardní roztok 4 nitrofenolu (4 NP). (Již samotný podíl kalibrátoru na celkovém Bias (%) představuje u testovaných souprav cca 10 %)
5. Důrazně se nedoporučuje použití firemních kalibrátorů a kalibračních faktorů, s jejichž pomocí firmy

realizovaly restandardizace svých non IFCC IVD. Deklarace ALP u těchto materiálů zahrnují korekce, které jsou vztažené ke konkrétní soupravě i analytické instrumentaci, proto jsou nepoužitelné pro soupravy/analyzátoři jiného výrobce.

## Výhledy do budoucna

V průběhu roku 2015 by měly nastat podmínky k dosažení standardizace měření ALP i v rutinní praxi, a to nejen teoreticky. Standardizace pomocí referenční metody „IFCC 2011“ platí již pro soupravy Siemens, byla také realizována a v srpnu 2014 publikována restandardizace stávajících non IFCC prostředků firmou Roche [10]. Účastnickým laboratořím jsou dostupné kontrolní materiály SEKK s hodnotami IFCC 2011, určenými Referenční laboratoři RfB Hannover, jako nástroj verifikace srovnatelnosti jejich vlastních metod s referenční metodou IFCC 2011.

V průběhu roku 2015 lze očekávat, že po již realizovaných krocích významných globálních výrobců bude další rozšíření podmínek k dosažení standardizace měření ALP v oblasti IVD prostředků rychle pokračovat. Nejaktuálnějším krokem je realizace restandardizace IVD ALP Abbott z II/2015 na bázi nového firemního kalibračního faktoru.

Obdobně lze očekávat i pokrok v oblasti klinické interpretace výsledků měření ALP IFCC 2011. Viz například obsáhlá sdělení firmy Roche VIII/2014 [10], Abbott [11] a pro určení dosud neexistujících hodnot referenčních mezí v pediatrii pak i současnou práci [12].

## Shrnutí

Standardizace měření alkalické fosfatázy byla dokončena až v roce 2011, nejpozději z enzymů základního vyšetření krevního séra.

Aplikovaná do rutinní praxe je však jednotlivými výrobci se zpožděním a postupně.

Referenční metoda IFCC 2011 je dobře ověřená v programu EHK referenčních laboratoří RELA, takže její standardizační potenciál je díky kontrolním materiálům, s deklarovanou hodnotou ALP metodou IFCC, značný.

Výsledky vybraných programů EHK ukazují:

- existenci systematických diferencí mezi metodami, způsobených různou úrovní kalibrace, danou sice dokončenou, ale do praxe neaplikovanou standardizací
- nejasnost výrobců a laboratoří o skutečném stavu standardizace, tedy o nutnosti realizovat návaznost rutinních metod na referenční metodu IFCC 2011
- propastný rozdíl mezi hodnotami v EHK v národních programech (RfB Bonn Německo, Holandsko), kontinuálně monitorujících stav harmonizace výsledků a firemními programy (reprezentovanými RIQAS), které se harmonizací výsledků měření nezabývají a spokojují se srovnáváním výsledků uvnitř skupin metod, jakkoliv se tyto mezi sebou liší.

## Literatura

1. **Tietz, N. W., Rinker, A. D., Shaw, L. M.** IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes: Part 5. IFCC method for alkaline phosphatase (orthophosphoric-monoester phosphohydrolase, alkaline optimum, EC 3.1.3.1). *Clin. Chim. Acta*, 1983, 135/3: p. 339 - 349.
2. **Tietz, N. W., Burtis, C. A., Duncan, P., Ervin, K., Pettitclerc, C. J., Rinker, A. D. et al.** A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin. Chem.* 1983, 29/5: p. 751 – 761.
3. **Schumann, G., Klauke, R., Canalias, F., Bossert-Reuter, S., Franck, P. F. H., Gella, F. J. et al.** IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37° C. Part 9: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2011, 49/9: p. 1439 - 1446.
4. Dostupné na webové adrese: <http://www.sekk.cz/> ke dni 23. 1. 2015.
5. Dostupné na webové adrese: <http://www.dgkl-rfb.de/> ke dni 23. 1. 2015.
6. **Thienpont, L., Stöckl, D.** Master Comparison 2014. Preliminary Report Assay Performance. STT Consulting /University Gent Belgium, 25. 7. 2014. Dostupné na: <http://www.stt-consulting.com/news.php?rubrik=8>.
7. **Weykamp, C., Franck, P., Gunnewiek, J. K., de Jonge, R., Kuypers, A., van Loon, D. et al.** Harmonisation of seven common enzyme results through EQA. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2014, 52: p. 1549 – 1555.
8. **CLSI EP30-A.** Characterization and qualification of commutable reference materials for laboratory medicine; approved guideline. Wayne PA, *CLSI* 2010.
9. Dostupné na webové adrese: <http://www.dgkl-rfb.de:81/index.shtml> ke dni 23. 1. 2015.
10. Firemní dokumentace Roche. ALP podle IFCC Gen 2. Nová referenční standardizace, reassignace cílových hodnot. Srpen 2014. *Roche Diagnostics CZ*.
11. **Rosler, D., Yahalom, J., Lennartz, L., Armbruster, D., Gao, S., Orth, M.** Traceability of Abbott enzyme assays to IFCC reference method – International study. *Annual meeting AACC*. Los Angeles, July 15 – 19. 7. 2012.
12. **Christoph, J.** Änderung der pädiatrischen Referenzwerte der Alkalischen Phosphatase bei Messung gemäss IFCC 2011. *Deutscher Kongress für Laboratoriumsmedizin DGKL*, Mannheim 24 – 27. 9. 2014.

Do redakce došlo 10. 11. 2014

Adresa pro korespondenci:  
Ing. Pavel Sedlák  
Oddělení klinické biochemie  
Městská nemocnice Čáslav  
Jeníkovská 348, 286 01 ČÁSLAV  
E-mail: [pavel.sedlak@nemcaslav.cz](mailto:pavel.sedlak@nemcaslav.cz)