

УДК 661.12:658.562:615.07

<https://doi.org/10.24959/cphj.20.1518>**С. В. Місюрьова, Н. О. Свід, В. Є. Доброва, І. А. Отрішко, В. В. Пропіснова**

Національний фармацевтичний університет, Україна

ВАЛІДАЦІЯ БІОХІМІЧНОЇ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ РІВНЯ АМІАКУ У ЗРАЗКАХ БІОЛОГІЧНИХ РІДИН ЯК ІНСТРУМЕНТ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЯКОСТІ ДІАГНОСТИКИ ГІПЕРАМОНЕМІЙ

Одним з найбільш актуальних питань у системі охорони здоров'я України на теперішній день є забезпечення якості лабораторних досліджень. Для цього необхідно розробити і впровадити систему якості згідно з ISO 15189:2015 «Лабораторії медичні. Основні вимоги до якості і компетентності», значимим етапом якої є проведення валідаційних робіт. Основними об'єктами стають методики, за допомогою яких проводяться вимірювання показників в лабораторії. При ураженні печінки обов'язково проводять лабораторне обстеження, що включає дослідження пігментного (загального, прямого та непрямого білірубину), ферментного (АлАТ, АсАТ, ЛДГ, ЛФ та ін.) та білкового обміну. Також печінка виступає центральним органом у метаболізмі азотистих сполук, де відбувається утворення значної кількості аміаку та його знешкодження. Тому рівень аміаку в крові є важливим показником, який відображає функціональний стан печінки та може служити індикатором важкості ураження цього органу.

Мета дослідження. Розробка методики проведення валідаційних процедур з оцінки придатності біохімічної методики визначення рівня аміаку у біологічних рідинах у Лабораторії клінічної діагностики Клініко-діагностичного центру НФаУ.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження стала стандартизована методика визначення рівня аміаку. Для дослідження був обраний реактив «Аміак NH₃» виробництва Randox, США та у якості контрольної сироватки обраний контроль «Ammonia ethanol control – level 2» виробництва Randox, США з відомою концентрацією. Вимірювання проводилися на автоматичному біохімічному аналізаторі Express Plus виробництва фірми «Bayer Corporation», Німеччина. При обробці результатів досліджень були використані показники описової статистики та проведено ряд статистичних оцінок.

Результати. Процедура валідації методики складається з кількох етапів. На базі Лабораторії клінічної діагностики КДЦ НФаУ були розроблені протокол та валідаційний звіт для оцінки придатності методики визначення концентрації аміаку в біологічних рідинах ензиматичним УФ-методом на автоматичному біохімічному аналізаторі Express Plus. Валідацію було проведено за допомогою реагентів та контрольних матеріалів виробництва Randox, США. Були визначені валідаційні характеристики методики: специфічність, збіжність та відтворюваність, правильність, невизначеність вимірювань. Оцінка внутрішньо-лабораторної збіжності та відтворюваності методики визначення аміаку при роботі на аналізаторі, яка була проведена двома операторами-лаборантами однакової кваліфікації, вказує на відсутність грубих помилок у роботі приладу та статистично важливих відмінностей при проведенні вимірювань. Оцінка правильності методики, проведеної за допомогою контрольних матеріалів, довела, що систематична похибка не значима (по заданому критерію прийнятності). Отже, дана методика забезпечує правильність вимірів у межах лабораторії. Розрахунок розширеної невизначеності показав, що отримані значення рівня аміаку можна вважати точними та достовірними.

Висновки. Валідація методики визначення аміаку в крові людини ензиматичним методом довела, що дана методика має робочі характеристики, які відповідають регламентованим, задовольняє встановленим критеріям, а вимірювані за її допомогою параметри відповідають належним.

Ключові слова: валідація; методика визначення; аміак; збіжність та відтворюваність; правильність та невизначеність вимірювань

S. V. Misiurova, N. O. Svid, V. Ye. Dobrova, I. A. Otrishko, V. V. Propisnova*National University of Pharmacy, Ukraine*

Validation of the biochemical method of determining the ammonia level in the biological liquid samples as a tool for providing the quality of hyperammonemia diagnostics

Nowadays, one of the most topical issues in the healthcare system of Ukraine is to ensure the quality of laboratory research. For this purpose, it is necessary to develop and implement a quality system in accordance with ISO 15189: 2015 "Medical laboratories. Basic requirements for quality and competence", its significant stage is conducting validation. The main objects are the methods by which measurements are made in the laboratory. In case of liver lesions, a laboratory examination is mandatory, including the study of the pigment (total, direct and indirect bilirubin), enzyme (ALT, AST, LDH, alkaline phosphatase, etc.) and protein metabolism. The liver also acts as a central organ in the metabolism of nitrogen compounds; in it a significant amount of ammonia is formed and neutralized. Therefore, the level of blood ammonia is an important parameter that reflects the functional state of the liver and can serve as an indicator of the severity of damage to this organ.

Aim. To develop the method for conducting validation procedures in order to assess the suitability of the biochemical method for determining the level of ammonia in biological liquids in the Laboratory of Clinical Diagnostics of the Clinical Diagnostic Center of the NUPh.

Materials and methods. The object of the study was a standardized method for determining the level of ammonia. An “Ammonia NH₃” reagent manufactured by Randox, USA, and the known concentration of “Ammonia ethanol control – level 2” manufactured by Randox, USA as a control serum were selected for the study. The measurements were carried out on an Express Plus automatic biochemical analyzer manufactured by Bayer Corporation, Germany. When processing the research results the descriptive statistics indicators were used, and a number of statistical evaluations were carried out.

Results. The validation procedure consists of several stages. At the premises of the Laboratory of Clinical Diagnostics of the CDC of the NUPh the protocol and the validation report were developed to assess the suitability of the method for determining the concentration of ammonia in biological liquids by the enzymatic UV method on an Express Plus automatic biochemical analyzer. Validation was carried out using reagents and control material manufactured by Randox, USA. The following validation characteristics of the method were determined: specificity, convergence and reproducibility, correctness, measurement uncertainty. The assessment of the intermediate convergence and reproducibility of the ammonia determination method when working on the analyzer by two laboratory assistants of the same qualification indicates the absence of gross errors in the operation of the device and statistically important differences during measurements. The assessment of the method correctness using the control material has proven that the systematic error is not significant (according to the given criterion of acceptability). Thus, this method provides the accuracy of measurements within the laboratory. The calculation of the expanded uncertainty has shown that the obtained values of the ammonia level can be considered accurate and reliable.

Conclusions. The validation of the method for determining ammonia in the human blood by the enzymatic method has proven that this method has performance characteristics that meet the regulated ones, satisfies the established criteria, and the parameters measured correspond to the appropriate ones.

Key words: validation; determination procedure; ammonia; convergence and reproducibility; correctness and uncertainty of measurements

С. В. Мисюрева, Н. А. Свид, В. Е. Доброва, И. А. Отришко, В. В. Прописнова

Национальный фармацевтический университет, Украина

Валидация биохимической методики определения уровня аммиака в образцах биологической жидкости как инструмент обеспечения качества диагностики гипераммонемий

Одним из наиболее актуальных вопросов в системе здравоохранения Украины на сегодняшний день является обеспечение качества лабораторных исследований. Для этого необходимо разработать и внедрить систему качества согласно ISO 15189: 2015 «Лаборатории медицинские. Основные требования к качеству и компетентности», значительным этапом которой является проведение валидационных работ. Основными объектами становятся методики, с помощью которых проводятся измерения показателей в лаборатории. При поражениях печени обязательно проводится лабораторное обследование, включающее исследование пигментного (общего, прямого и непрямого билирубина), ферментного (АЛТ, АсАТ, ЛДГ, ЩФ и др.) и белкового обмена. Также печень выступает центральным органом в метаболизме азотистых соединений, где происходит образование значительного количества аммиака и его обезвреживание. Поэтому уровень аммиака в крови является важным показателем, который отражает функциональное состояние печени и может служить индикатором тяжести поражения этого органа.

Цель исследования. Разработка методики проведения валидационных процедур по оценке пригодности биохимической методики определения уровня аммиака в биологических жидкостях в Лаборатории клинической диагностики Клинико-диагностического центра НФаУ.

Материалы и методы. Объектом исследования стала стандартизированная методика определения уровня аммиака. Для исследования был выбран реактив «Аммиак NH₃» производства Randox, США и в качестве контрольной сыворотки выбран контроль «Ammonia ethanol control – level 2» производства Randox, США с известной концентрацией. Измерения проводились на автоматическом биохимическом анализаторе Express Plus производства фирмы «Bayer Corporation», Германия. При обработке результатов исследований были использованы показатели описательной статистики и проведен ряд статистических оценок.

Результаты. Процедура валидации методики состоит из нескольких этапов. На базе Лаборатории клинической диагностики КДЦ НФаУ были разработаны протокол и валидационный отчет для оценки пригодности методики определения концентрации аммиака в биологических жидкостях энзиматическим УФ-методом на автоматическом биохимическом анализаторе Express Plus. Валидацию было проведено с помощью реагентов и контрольного материала производства Randox, США. Были определены валидационные характеристики методики: специфичность, сходимости и воспроизводимости, правильность, неопределенность измерений. Оценка внутренилабораторной сходимости и воспроизводимости методики определения аммиака при работе на анализаторе, которая была проведена двумя операторами-лаборантами одинаковой квалификации, указывает на отсутствие грубых ошибок в работе прибора и статистически важных различий при проведении измерений. Оценка правильности методики, проведенной с помощью контрольного материала, доказала, что систематическая погрешность не значима (по заданному критерию приемлемости). Таким образом, данная методика обеспечивает правильность измерений в пределах лаборатории. Расчет расширенной неопределенности показал, что полученные значения уровня аммиака можно считать точными и достоверными.

Выводы. Валидация методики определения аммиака в крови человека энзиматическим методом доказала, что данная методика имеет рабочие характеристики, которые соответствуют регламентированным, удовлетворяют установленным критериям, а измеренные с её помощью параметры соответствуют надлежащим.

Ключевые слова: валидация; методика определения; аммиак; сходимости и воспроизводимости; правильность и неопределенность измерений

Аміак – найбільш добре вивчений і, мабуть, найважливіший патогенетичний фактор печінкової енцефалопатії (ПЕ) [1].

Патогенез ПЕ має деякі відмінності залежно від варіанту пошкодження печінки. У розвитку ПЕ беруть участь два основних механізми: 1) зниження детоксикаційної функції печінки внаслідок її гострого або хронічного захворювання (обумовлює розвиток «ендогенної» ПЕ); 2) формування функціональних або анатомічних шунтів між системами портального і загального кровообігу, що призводить до проникнення токсичних продуктів кишкового походження в головний мозок (обумовлює розвиток портосистемної ПЕ). Необхідно констатувати, що при цирозі печінки переважає саме портосистемна ПЕ, хоча ендогенна ПЕ також присутня та корелює з вираженістю гепатодепресії [1].

Встановлено, що рівень іонів амонію в системній циркуляції зростає в 2-3 рази на початкових стадіях ПЕ при цирозі і досягає 10-кратного підвищення при фульмінантній печінковій недостатності [2]. Гіперамоніємія веде до пошкодження астроцитів і далі – до порушення нейротрансмісії.

Найбільш значні кількості аміаку утворюються внаслідок дезамінування амінокислот у печінці; в якості додаткових джерел можуть виступати м'язи, нирки і травний тракт [3]. Будучи основним джерелом аміаку, печінка в той же час служить головним місцем його знешкодження за рахунок синтезу сечовини у орнітиновому циклі, який функціонує в перипортальних гепатоцитах. Менша частина аміаку бере участь у синтезі глутаміну в перивенозних гепатоцитах, м'язах і головному мозку.

Токсична дія аміаку не обмежується головним мозком і поширюється на організм в цілому, в тому числі на клітини печінки. Це пов'язано з його впливом на кілька функціональних систем [4, 5]. По-перше, аміак легко проникає через мембрани до клітин і в мітохондріях зрушує реакцію, яка каталізується глутаматдегідрогеназою в бік утворення глутамату. Зменшення концентрації α -кетоглутарату, в свою чергу, призводить до пригнічення реакцій трансамінування та зниження концентрації метаболітів цитратного циклу, що викликає прискорення реакції синтезу оксалоацетату з пірувату і супроводжується інтенсивним споживанням CO_2 . По-друге, підвищення концентрації аміаку в крові зрушує рН в лужний бік. Алкалоз збільшує спорідненість гемоглобіну до кисню, що призводить до гіпоксії тканин та накопичення CO_2 , до якого також найбільш чутливі нейрони головного мозку. Надлишок іону амонію в крові здатен порушувати трансмембранний перенос одновалентних катіонів Na^+ і K^+ , конкуруючи з ними

за іонні канали. Так як розглянуті процеси універсальні для всіх клітин і тканин, можна припустити, що при патології печінки порушення обміну аміаку посилює структурні і функціональні зміни гепатоцитів [5].

Діагностика ПЕ досить складна і, як правило, вимагає великої кількості лабораторних досліджень [6], у тому числі функціональних печінкових проб та, особливо, визначення кількості аміаку.

Одним з найбільш актуальних питань у системі охорони здоров'я України на теперішній час є забезпечення якості лабораторних досліджень за допомогою розробки і впровадження системи якості згідно з ISO 15189:2015 «Лабораторії медичні. Основні вимоги до якості і компетентності» [7]. Під якістю лабораторних досліджень у світовій практиці розуміють їх аналітичну достовірність і своєчасність. Під аналітичною достовірністю – властивість результатів відповідати певним вимогам до точності, тобто результати не повинні містити таких помилок (похибок), які можуть призвести до помилкового лікарського рішення, тому важливо оцінити величину допустимої похибки результату [8].

Ефективним засобом виявлення і оцінки помилок, за допомогою якого лабораторія оцінює достовірність отриманих результатів, є внутрішньолабораторний контроль якості (ВКЯ) [9]. Основні завдання внутрішньолабораторного контролю якості: оцінка і безперервний контроль за незмінністю головних критеріїв точності результату – відтворюваністю і правильністю; пошук причин, які призводять до неприпустимих помилок результатів досліджень; визначення або уточнення меж референтних діапазонів; оцінка метрологічних характеристик аналітичного методу [9]. Також значною складовою системи якості є проведення валідаційних робіт. Основними об'єктами стають методики, за допомогою яких проводяться вимірювання показників в лабораторії. Вони повинні гарантувати достовірні і точні результати [10].

Метою нашої роботи була розробка методики проведення валідаційних процедур з оцінки придатності біохімічної методики визначення рівня аміаку у зразках біологічних рідин у Лабораторії клінічної діагностики Клініко-діагностичного центру НФаУ.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження стала стандартизована методика визначення рівня аміаку. Для дослідження був обраний реактив «Аміак NH_3 » виробництва Randox, США. До складу набору для визначення аміаку входить: R1a (NADPH α -ketoglutarate), Буфер R1b (Triethanolamine) та реагент R2 (GLDH).

В якості контрольної сироватки обраний контроль «Ammonia ethanol control – level 2» виробництва Randox, США з відомою концентрацією (C_{CT}), в якому вміст аміаку складає 145 мкмоль/л, допустимий діапазон відхилень – ± 29 мкмоль/л. Закрита контрольна сироватка стабільна при температурі – 2-8 °С до закінчення терміну придатності. Відкрита сироватка стабільна 30 днів при температурі 2-8 °С (після взяття необхідної кількості контролю будь-який залишковий продукт не можна повертати назад до флакону).

При порівнянні якості та вірогідності визначення аміаку в біологічних рідинах ензиматичним УФ-методом при роботі був використаний автоматичний біохімічний аналізатор Express Plus виробництва фірми «Bayer Corporation», Німеччина. Порівняння було проведено з метою усунення грубих помилок у роботі аналізатора та статистично важливих відмінностей при проведенні вимірювань двох операторів-лаборантів та при проведенні вимірювань за часовим фактором.

При обробці результатів досліджень були використані показники описової статистики та проведено ряд статистичних оцінок. За методикою були визначені валідаційні характеристики: збіжність і відтворюваність, правильність та невізначеність [11].

Результати та їх обговорення

Процедура валідації методики визначення концентрації аміаку при роботі на автоматичному біохімічному аналізаторі Express Plus складається з кількох етапів.

Перш за все, був складений валідаційний сценарій: встановлені особливості даної методики; проаналізовані параметри, які потрібно оцінювати. Враховуючи технічні характеристики аналізатора, межі виявлення методики визначення аміаку обмежуються лише характеристиками тест-набору та становлять 0,01-1180 мкмоль/л [12].

По-друге, на базі Лабораторії клінічної діагностики КДЦ НФаУ був розроблений валідаційний протокол, у якому визначено персонал, що залучається до процедури валідації; надано інформацію та документальне підтвердження щодо належної роботи приладу, який використовується; обумовлено послідовність експериментів, їх кількість, форми і вигляд їх надання, а також зроблено вибір прийнятних для оцінки статистичних методів обробки результатів вимірювань. Планування експерименту було проведено з метою максимально спростити роботу, враховуючи розумне використання результатів для здійснення оцінок декількох параметрів [12]. Враховуючи те, що кількість потрібних даних може варіюватися, дотримувались рекомендації ДФУ, у яких запропоновано для кожної серії роботи не менш ніж три виміри [13].

Таблиця

Результати вимірювань внутрішньолабораторної збіжності та відтворюваності при перевірці впливу фактора «оператор-лаборант»

J	Аміак	
	Оператор 1	Оператор 2
1	153	155
2	165	163
3	160	162
4	155	153
5	150	154
6	164	168
\bar{X}_j	157,83	159,16
S_j	6,112	6,047
\bar{X}	158,5	
σ_r	6,080	
S_B	0,1448	
S_R	4,401	
r	16,84	
R	12,19	
U_p	29	

У процесі оцінки внутрішньолабораторної збіжності та відтворюваності за допомогою діаграми Ішикави був проведений аналіз можливих причин втрати точності при визначенні рівня концентрації аміаку на біохімічному аналізаторі Express Plus.

Основним джерелом втрати точності при роботі на приладі є оператор-лаборант, який виконує дослідження. Від рівня його кваліфікації та навичок залежить достовірність та точність проведених вимірювань. Також на правильність проведення методики впливає часовий фактор, який підлягає перевірці [14]. Вплив температури зовнішнього середовища при проведенні процедури валідації враховано не було, оскільки температура підтримується на постійному рівні (за допомогою кондиціонерів, які встановлені в приміщеннях лабораторії). Так як біохімічний аналізатор робить забір біологічних рідин, вимірювання оптичної щільності та додавання реагентів автоматично, то і ці фактори не враховувались. Вплив відповідального з контролю якості на роботу приладу і, відповідно, результат – опосередкований, тому ми не враховували його у подальшому дослідженні [15].

Для перевірки впливу фактора «оператор-лаборант» на показники збіжності та відтворюваності всередині лабораторії два оператори-лаборанти однакової кваліфікації провели по шість вимірів спостережень на стандартному

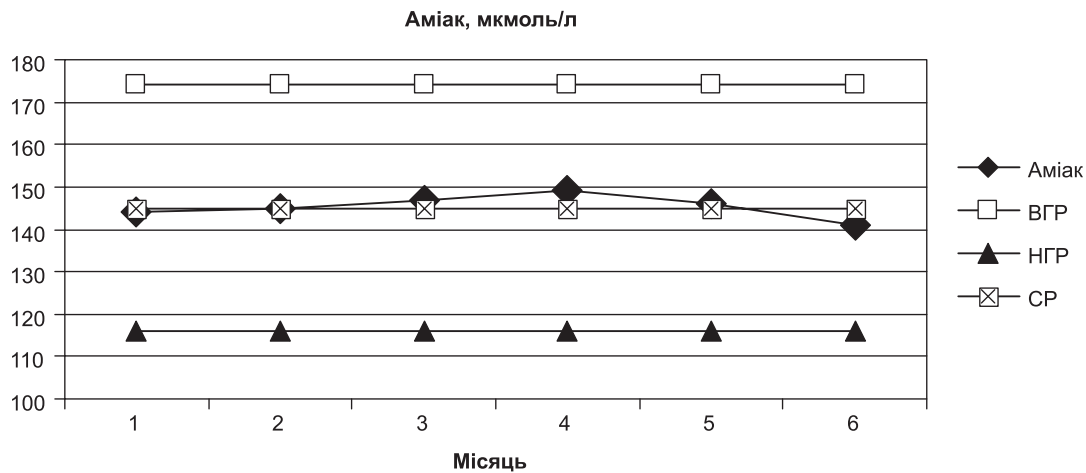


Рис. Карта Шухарта вимірювання рівня аміаку впродовж червня-листопада 2018 р.

зразку аміаку ($C_{ст} = 145$ мкмоль/л) на біохімічному аналізаторі (табл.).

Для оцінки збіжності вимірювань, проведених за допомогою даної методики всередині лабораторії, перевіряється гіпотеза про рівність дисперсій $H_0: s_1^2 = s_2^2$. У випадку, коли кількість серій становить дві, використовують критерій Фішера [16].

За критерієм Фішера було розраховано вибіркове значення при роботі на автоматичному біохімічному аналізаторі Express Plus: $F_{0,975} = 1,011$ для аміаку. Розраховане значення цього критерію значно менше за критичне значення критерію Фішера $F_{0,975} (n = 5, f = 5) = 5,05$. Таким чином, на основі отриманих даних можна зробити висновок, що дисперсії в даних серіях є рівними і такими, що належать до однієї генеральної сукупності, а також вказує на відсутність грубих помилок у роботі приладу та статистично важливих відмінностей при проведенні вимірювань обох операторів-лаборантів [17].

За результатами вимірювань у таблиці представлені розраховані оцінки дисперсій збіжності та відтворюваності при роботі на приладі, а також межі збіжності ($r = 2,77 \times \sigma_r$) та відтворюваності ($R = 2,77 \times S_R$). Отже, дану методику слід вважати такою, що має внутрішньолабораторну збіжність по досліджуваному фактору [17].

Наступним етапом була досліджена правильність методики за часовим фактором. Правильність у межах лабораторії оцінювалася за допомогою того ж самого стандартного зразка в умовах внутрішньолабораторної збіжності і відтворюваності. Кожна серія вимірювань перевірена на однорідність. Для перевірки впливу цього фактора одним оператором-лаборантом були проведені шість серій, в кожній серії проведено по шість вимірів у різний час роботи аналізатора [12].

Далі була розрахована імовірність того, що середні значення для всіх вимірів у кожній з наведених серій є рівними і відносяться до однієї ге-

неральної сукупності за критерієм Стьюдента [18]. Ця імовірність склала: $T = -0,0631$, що не перевищує рівень значимості $T_{кр} = 2,4469$ і доводить правильність виконання методики в різний час роботи біохімічного аналізатора Express Plus.

Крім того, була розрахована розширена невізначеність вимірювань аміаку $U_p = t_s(p, v_{эф.}) \cdot u_c(y_j)$ в умовах збіжності, відтворюваності та правильності даної методики з метою метрологічної оцінки придатності методики [19]. Результати розрахунків представлені в таблиці. Вона склала $U_p = 28,86$, а це свідчить, що в діапазоні 145 ± 29 мкмоль/л отримані значення рівня аміаку можна вважати точними та достовірними.

Лабораторія клінічної діагностики КДЦ НФаУ щорічно бере участь у програмі зовнішнього міжлабораторного порівняння результатів вимірювань та проводить внутрішньолабораторний контроль якості, тому з метою визначення основних можливих причин втрати точності при проведенні вимірювань було вирішено провести аналіз роботи Лабораторії за допомогою карти Шухарта (рис.). Вона розраховувалась та будувалась на базі вищепроведених валідаційних оцінок даної методики визначення аміаку [17].

На підставі даних валідаційних заходів ми можемо зробити висновок, що впродовж червня-листопада 2018 року вплив систематичної похибки на процес вимірювання рівня аміаку був незначущим.

Таким чином, валідація біохімічної методики визначення рівня аміаку в сироватці людини за допомогою біохімічного аналізатора Express Plus довела, що така методика має робочі характеристики, які відповідають регламентованим, задовольняє встановленим критеріям, а вимірювані за її допомогою параметри відповідають належним.

ВИСНОВКИ

1. У ході проведеного дослідження були визначені особливості, підходи та вимоги до оцінки

валідації біохімічної методики визначення рівня аміаку в біологічних рідинах та ключові моменти виникнення невизначеностей у Лабораторії клінічної діагностики КДЦ НФаУ.

2. Доведено, що валідація методики «Порівняння якості та вірогідності визначення рівня аміаку в біологічних рідинах ензиматичним методом при роботі на біохімічному аналізаторі Express Plus» має робочі характеристики, які від-

повідають регламентованим, задовольняють встановленим критеріям, а вимірювані за її допомогою параметри відповідають належним.

3. Оцінка внутрішньолабораторної збіжності та відтворюваності методики визначення концентрації аміаку вказує на відсутність грубих помилок у роботі аналізатора та статистично важливих відмінностей при проведенні вимірювань.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Перелік використаних джерел інформації

1. Tapper, E. B. Predicting Overt Hepatic Encephalopathy for the Population With Cirrhosis / E. B. Tapper // *Hepatology*. – 2019. – Vol. 70, № 1. <https://doi.org/10.1002/hep.30533>
2. Hyperammonemia, the Last Indication of High-Volume Hemodiafiltration in Adult and Children: A Structured Review / S. Redant, X. Beretta-Piccoli, A. Mugisha et al. // *Blood Purification*. – 2019. – Vol. 48 (4). – P. 330–335. <https://doi.org/10.1159/000501390>
3. To pee or not to pee: ammonia hypothesis of hepatic encephalopathy revisited / L. Mpabanzi, S. W. M. Olde Damink et al. // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2011. – Vol. 23. – P. 449–454. <https://doi.org/10.1097/meg.0b013e328346a7bd>
4. Acute-on-chronic liver failure: current concepts on definition, pathogenesis, clinical manifestations and potential therapeutic interventions / W. Laleman, L. Verbeke, P. Meersseman et al. // *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* – 2011. – Vol. 5. – P. 523–537. <https://doi.org/10.1586/egh.11.47>
5. Буеверов, А. О. Аммиак как нейро- и гепатотоксин : клинические аспекты / А. О. Буеверов // *Медицинский совет*. – 2015. – № 13.
6. Симптоми та синдроми в практичній фармації: принципи терапії: навчальний посібник / І. А. Зупанець, С. Б. Попов, Ю. С. Рудик та ін. ; під ред. І. А. Зупанця, А. А. Котвіцької. – 2-ге вид., перероб. – Х. : Золоті сторінки, 2018. – С. 49–50.
7. Наказ від 1 жовтня 2015 року № 644 «Про затвердження Концепції системи менеджменту якості в медичних лабораторіях України у відповідності до вимог міжнародних стандартів та Плану заходів щодо її реалізації» – [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <https://ips.ligazakon.net/document/MOZ25118>
8. Анализы при заболеваниях печени [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://www.kp.ru/guide/analizy-pri-zabolevanijakh-pecheni.html>
9. Контроль качества лабораторных исследований [Электронный ресурс] // *Здоров'я України Інфомедіа*. – 2015. – Режим доступу : <https://health-ua.com/article/16468-kontrol-kachestva-laboratornyh-issledovaniy>
10. Добрава, В. Є. Теоретичні аспекти планування вимірювальних експериментів при проведенні клінічних досліджень лікарських засобів / В. Є. Добрава // *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. – 2010. – № 3 (11). – С. 6–11.
11. Забезпечення якості біохімічних досліджень в системі управління даними при клінічних випробуваннях / К. Л. Радушна, Н. С. Мазур, К. О. Зупанець, В. Є. Добрава // *Укр. біофармац. журн.* – 2013. – Вип. 4 (27). – С. 17.
12. Впровадження системи якості згідно державного стандарту ISO 15189:2015 у Лабораторії клінічної діагностики Клініко-діагностичного центру Національного фармацевтичного університету : прикладні аспекти / С. В. Місюрьова, В. Є. Добрава, Н. О. Свід, І. А. Отрішко // *Клінічна фармація*. – 2018. – Т. 22, № 1. – С. 28–33. <https://doi.org/10.24959/cphj.18.1449>
13. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х. : РІРЕГ, 2001. – 556 с.
14. Лабораторії медичні. Окремі вимоги до якості та компетентності. – ISO 15189-2009 – 40 (Міжнародний стандарт).
15. Забезпечення якості біохімічних досліджень за допомогою валідаційних процедур у Лабораторії клінічної діагностики Клініко-діагностичного центру Національного фармацевтичного університету на прикладі методик визначення рівнів загального та прямого білірубину у біологічних рідинах / С. В. Місюрьова, В. Є. Добрава, Н. О. Свід та ін. // *Клінічна фармація*. – 2018. – Т. 22, № 3. – С. 52–57. <https://doi.org/10.24959/cphj.18.1468>
16. Валідація біоаналітичних методів для фармакологічних досліджень лікарських засобів згідно вимог стандарту ДСТУ ISO/IEC 17025:2005 / В. Є. Добрава, С. М. Коваленко, Л. М. Малоштан, К. О. Степанова // *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. – 2009. – Вип. 4 (6). – С. 9–13
17. Підходи до впровадження системи якості згідно з ISO 15189:2015 у Лабораторії клінічної діагностики Клініко-діагностичного центру Національного фармацевтичного університету на прикладі методик визначення рівнів лактатдегідрогенази та глюкози у біологічних рідинах / С. В. Місюрьова, В. Є. Добрава, Н. О. Свід та ін. // *Клінічна фармація*. – 2019. – Т. 23, № 3. – С. 12–18. <https://doi.org/10.24959/cphj.19.1486>
18. Добрава, В. Є. Теоретичні підходи до оцінки та розрахунку невизначеностей результатів клінічних випробувань / В. Є. Добрава, І. А. Зупанець // *Клінічна фармація*. – 2011. – Т. 15, № 4. – С. 18–20.
19. Добрава, В. Е. Теоретические аспекты планирования измерительных экспериментов при проведении клинических испытаний лекарственных средств / В. Е. Добрава // *Системы обработки информации*. – 2010. – Вип. 4 (85). – Х. : ХУПС. – С. 145–147.

References

1. Tapper, E. B. (2019). Predicting Overt Hepatic Encephalopathy for the Population With Cirrhosis. *Hepatology*, 70(1). <https://doi.org/10.1002/hep.30533>
2. Redant, S., Beretta-Piccoli, X., Mugisha, A., Attou, R., Kaefer, K., De Bels, D., ... Honoré, P. M. (2019). Hyperammonemia, the Last Indication of High-Volume Hemodiafiltration in Adult and Children: A Structured Review. *Blood Purification*, 48(4), 330–335. <https://doi.org/10.1159/000501390>
3. Mpabanzi, L., Olde Damink, S. W. M., van de Poll, M. C. G., Soeters, P. B., Jalan, R., & Dejong, C. H. C. (2011). To pee or not to pee. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 23(6), 449–454. <https://doi.org/10.1097/meg.0b013e328346a7bd>
4. Laleman, W., Verbeke, L., Meersseman, P., Wauters, J., van Pelt, J., Cassiman, D., ... Nevens, F. (2011). Acute-on-chronic liver failure: current concepts on definition, pathogenesis, clinical manifestations and potential therapeutic interventions. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 5(4), 523–537. <https://doi.org/10.1586/egh.11.47>

5. Bueverov, A. O. (2015). *Medicinskij sovet*, 13, 80–85.
6. Zupanets, I. A., Popov, S. B., Rudik, Yu. S., Kotvitska, A. A. (2018). *Simptomi ta sindromi v praktichny farmatsii*. Kharkiv: NPhU: Zoloti storinky, 49–50.
7. NAKAZ vid 1 zhovtnia 2015 roku N 644. (2015). Pro zatverdzhennia Kontseptsii systemy menezhmentu yakosti v medychnykh laboratoriiakh Ukrainy u vidpovidnosti do vymoh mizhnarodnykh standartiv ta Planu zakhodiv shchodo yii realizatsii. Available at: <https://ips.ligazakon.net/document/MOZ25118>
8. Analizy pri zaboлевaniakh pecheni. (n.d.). Available at: <https://www.kp.ru/guide/analizy-pri-zabolevaniakh-pecheni.html>
9. *Kontrol kachestva laboratornykh yssledovanyi*. (2015). Zdorov'ia Ukrainy Infomedia. Available at: <https://health-ua.com/article/16468-kontrol-kachestva-laboratornyh-issledovaniy>
10. Dobrova, V. Ye. (2010). Teoretychni aspekty planuvannia vymiriuvalnykh eksperymentiv pry provedenni klinichnykh doslidzhen likarskykh zasobiv. *Management, Economics and Quality Assurance in Pharmacy*, 3(11), 6–11.
11. Ratushna, K. L., Mazur, N. S., Zupanets, K. O., Dobrova, V. Ye. (2013). Zabezpechennia yakosti biokhimichnykh doslidzhen v systemi upravlinnia danymy pry klinichnykh vyprobuvanniakh. *Ukrainian biopharmaceutical journal*, 4(27), 17.
12. Misiurova, S. V., Dobrova, V. Y., Svid, N. O., & Otrishko, I. A. (2018). Implementation of the quality system according to ISO 15189:2015 in the Laboratory of Clinical Diagnostics of the Clinical Diagnostic Center at the National University of Pharmacy: applied aspects. *Clinical pharmacy*, 22(1), 28–33. <https://doi.org/10.24959/cphj.18.1449>
13. *Derzhavna farmakopeia Ukrainy*. (1-st edition). (2001). Derzhavne pidpriemstvo «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr». Kharkiv: RERIH, 556.
14. ISO 15189–2009–40. (n.d.). Laboratorii medychni. Okremi vymohi do yakosti ta kompetentnosti.
15. Misiurova, S., Dobrova, V., Svid, N., Otrishko, I., & Sakharova, T. (2018). Quality assurance of biochemical studies using validation procedures in the laboratory of clinical diagnostics of the clinical diagnostic center of the national university of pharmacy on the example of the method of determining the level of general and direct bilirubin in biological fluids. *Clinical Pharmacy*, 22(3), 52–57. <https://doi.org/10.24959/cphj.18.1468>
16. Dobrova, V. Ye., Kovalenko, S. M., Maloshtan, L. M., Stepanova, K. O. (2009). Validatsiia bioanalytychnykh metodiv dlia farmakolohichnykh doslidzhen likarskykh zasobiv zhgidno vymoh standartu DSTU ISO/IES 17025:2005. *Management, Economics and Quality Assurance in Pharmacy*, 4(6), 9–13.
17. Misiurova, S., Dobrova, V., Svid, N., Otrishko, I., & Propisnova, V. (2019). Approaches to the implementation of the quality system in accordance with ISO 15189:2015 in the Laboratory of Clinical Diagnostics of the Clinical and Diagnostic Center at the National University of Pharmacy on the example of methods for determining the levels of lactate dehydrogenase and glucose in biological fluids. *Clinical Pharmacy*, 23(3), 12–18. <https://doi.org/10.24959/cphj.19.1486>
18. Dobrova, V. Ye., Zupanets, I. A. (2011). Teoretychni pidkhody do otsinky ta rozrakhunku nevyznachenosti rezultativ klinichnykh vyprobuvan. *Clinical pharmacy*, 15(4), 18–20.
19. Dobrova, V. Ye. (2010). Teoreticheskie aspekty planirovaniia izmeritelnykh eksperimentov pry provedenii klinicheskikh ispytaniy lekarstvennykh sredstv. *Systemy obrobky informatsii*, 4(85), 145–147.

Information about authors / Відомості про авторів / Информация об авторах

Мисюрьова С. В., кандидатка фармацевтичних наук, доцентка кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет (<https://orcid.org/0000-0001-7280-5981>)

Misiurova S. V., Candidate of Pharmacy (PhD), associate professor of the Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy Department, National University of Pharmacy (<https://orcid.org/0000-0001-7280-5981>)

Мисюрева С. В., кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры клинической фармакологии и клинической фармации, Национальный фармацевтический университет (<https://orcid.org/0000-0001-7280-5981>)

Свід Н. О., лікарка-лаборантка Лабораторії клінічної діагностики Клініко-діагностичного центру, Національний фармацевтичний університет (<https://orcid.org/0000-0002-6473-8886>)

Svid N. O., medical laboratory scientist of the Clinical Diagnostics Laboratory of the Clinical and Diagnostics Center, National University of Pharmacy (<https://orcid.org/0000-0002-6473-8886>)

Свид Н. А., врач-лаборант Лаборатории клинической диагностики Клинико-диагностического центра, Национальный фармацевтический университет (<https://orcid.org/0000-0002-6473-8886>)

Доброва В. Е., докторка фармацевтичних наук, професорка кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет (<https://orcid.org/0000-0002-5950-3513>)

Dobrova V. Ye., Doctor of Pharmacy (Dr.habil.), professor of the Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy Department, National University of Pharmacy (<https://orcid.org/0000-0002-5950-3513>)

Доброва В. Е., доктор фармацевтических наук, профессор кафедры клинической фармакологии и клинической фармации, Национальный фармацевтический университет (<https://orcid.org/0000-0002-5950-3513>)

Отришко І. А., кандидатка фармацевтичних наук, доцентка кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет (<https://orcid.org/0000-0002-9089-8576>)

Otrishko I. A., Candidate of Pharmacy (PhD), associate professor of the Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy Department, National University of Pharmacy (<https://orcid.org/0000-0002-9089-8576>)

Отришко И. А., кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры клинической фармакологии и клинической фармации, Национальный фармацевтический университет (<https://orcid.org/0000-0002-9089-8576>)

Прописнова В. В., кандидатка фармацевтичних наук, доцентка кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет (<https://orcid.org/0000-0002-1892-8937>)

Propisnova V. V., Candidate of Pharmacy (PhD), associate professor of the Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy Department, National University of Pharmacy (<https://orcid.org/0000-0002-1892-8937>)

Прописнова В. В., кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры клинической фармакологии и клинической фармации, Национальный фармацевтический университет (<https://orcid.org/0000-0002-1892-8937>)

Adresa dla listuvannia: 61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 27, кафедра клінічної фармакології та клінічної фармації НФаУ. +38 057 706 30 72. E-mail: clinpharm@nuph.edu.ua

Mailling address: 27, Pushkinska str., Kharkiv, 61057, Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy. +38 057 706 30 72. E-mail: clinpharm@nuph.edu.ua

Adres dla perepiski: 61057, г. Харьков, ул. Пушкинская, 27, кафедра клинической фармакологии и клинической фармации НФаУ. +38 057 706 30 72. E-mail: clinpharm@nuph.edu.ua