

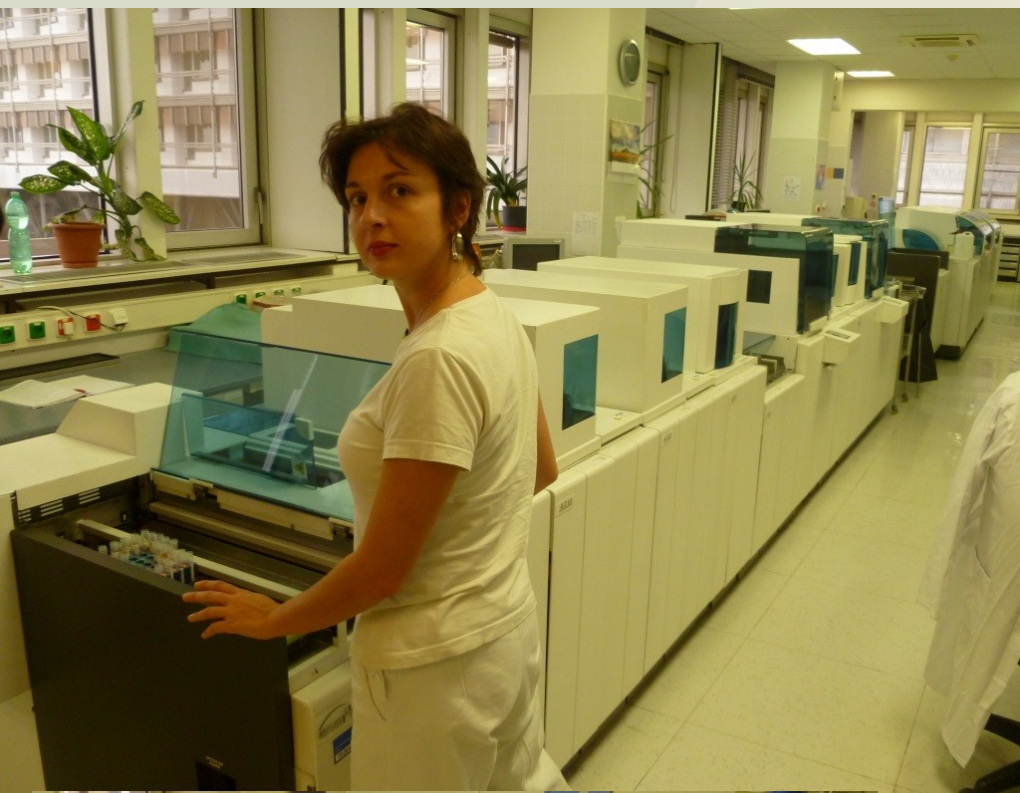
Kalibrace  
Jednotky  
Referenční meze  
Cut off

Ondřej Wiewiorka





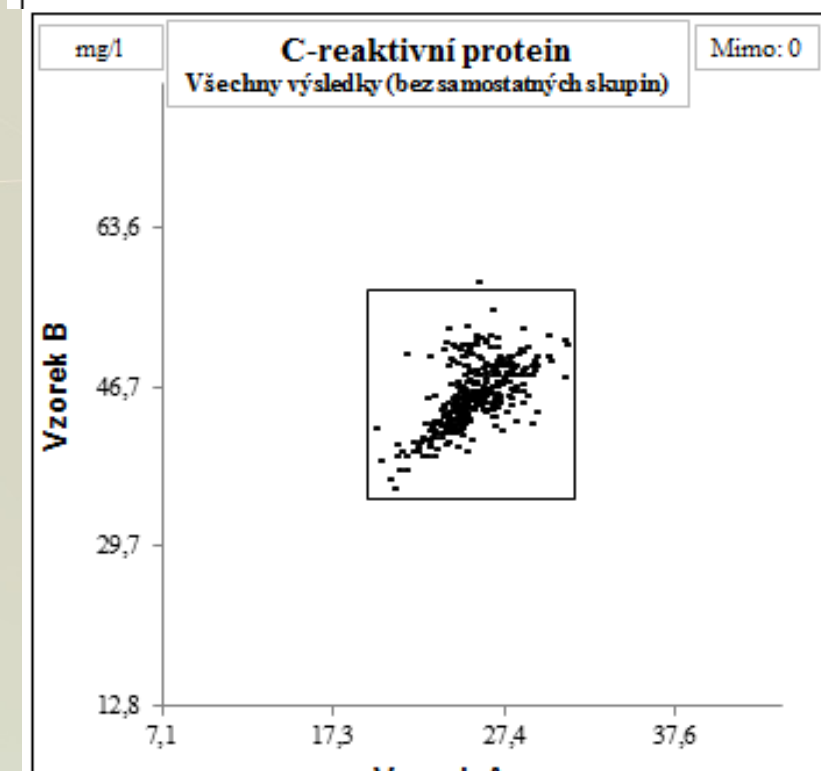
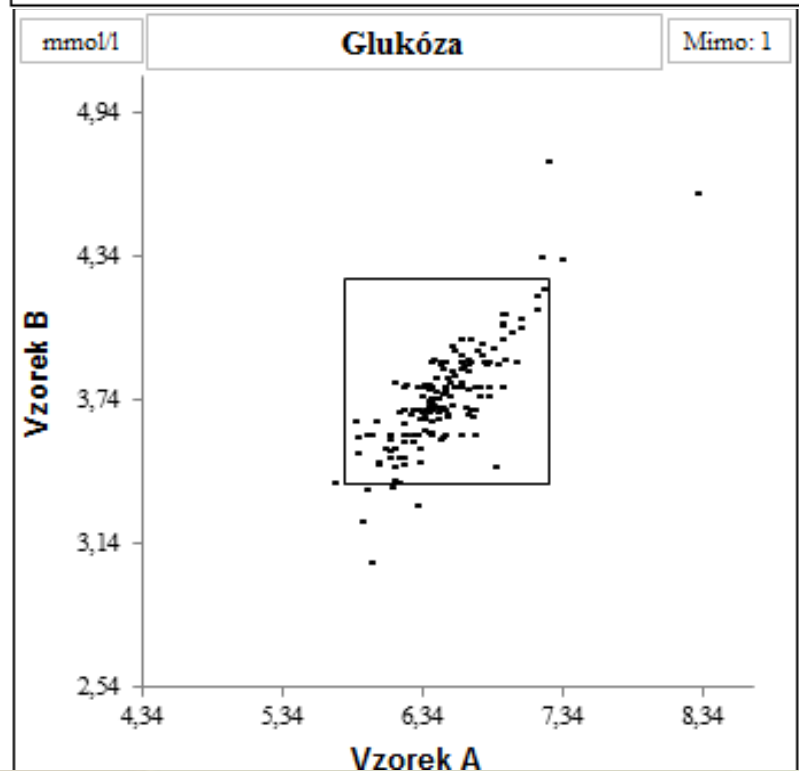
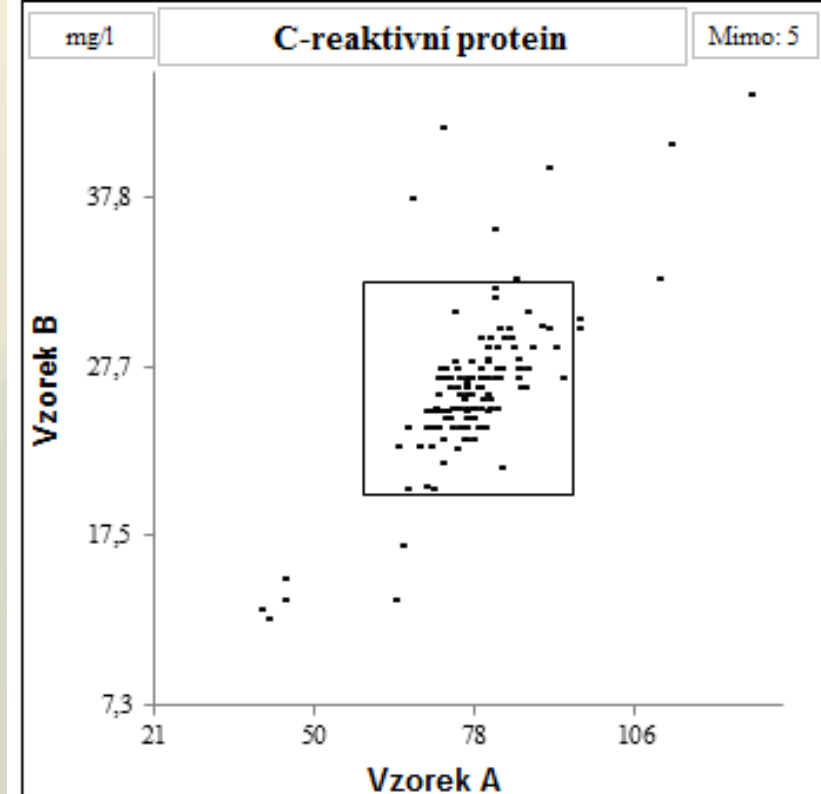
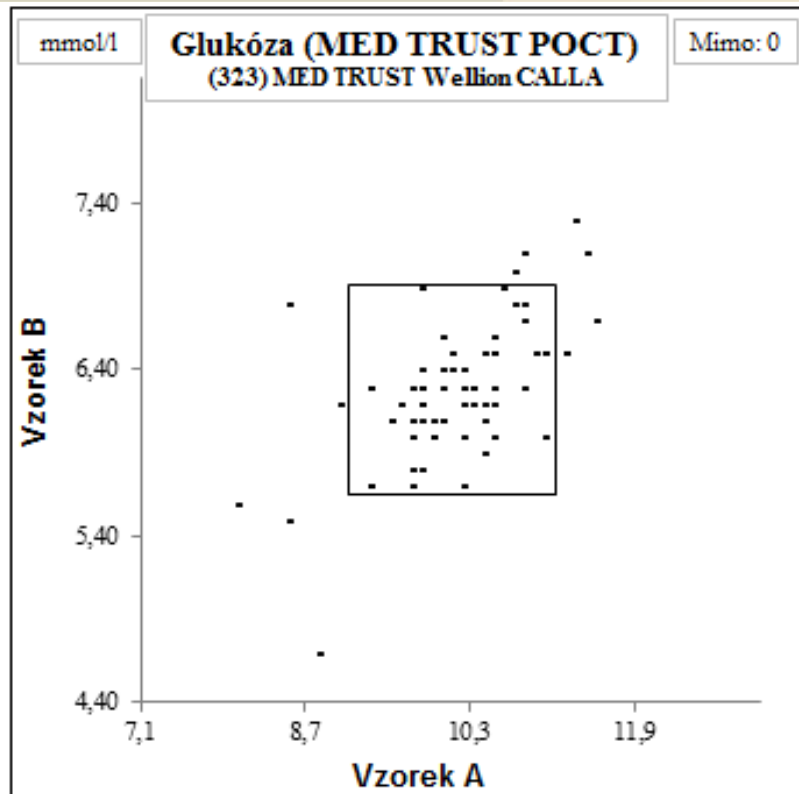
# Centralizované laboratoře





# Decentralizované přístroje - POCT





# Standardizace metod

Polohu výsledků výše uvedených skupin ukazuje graf vpravo.

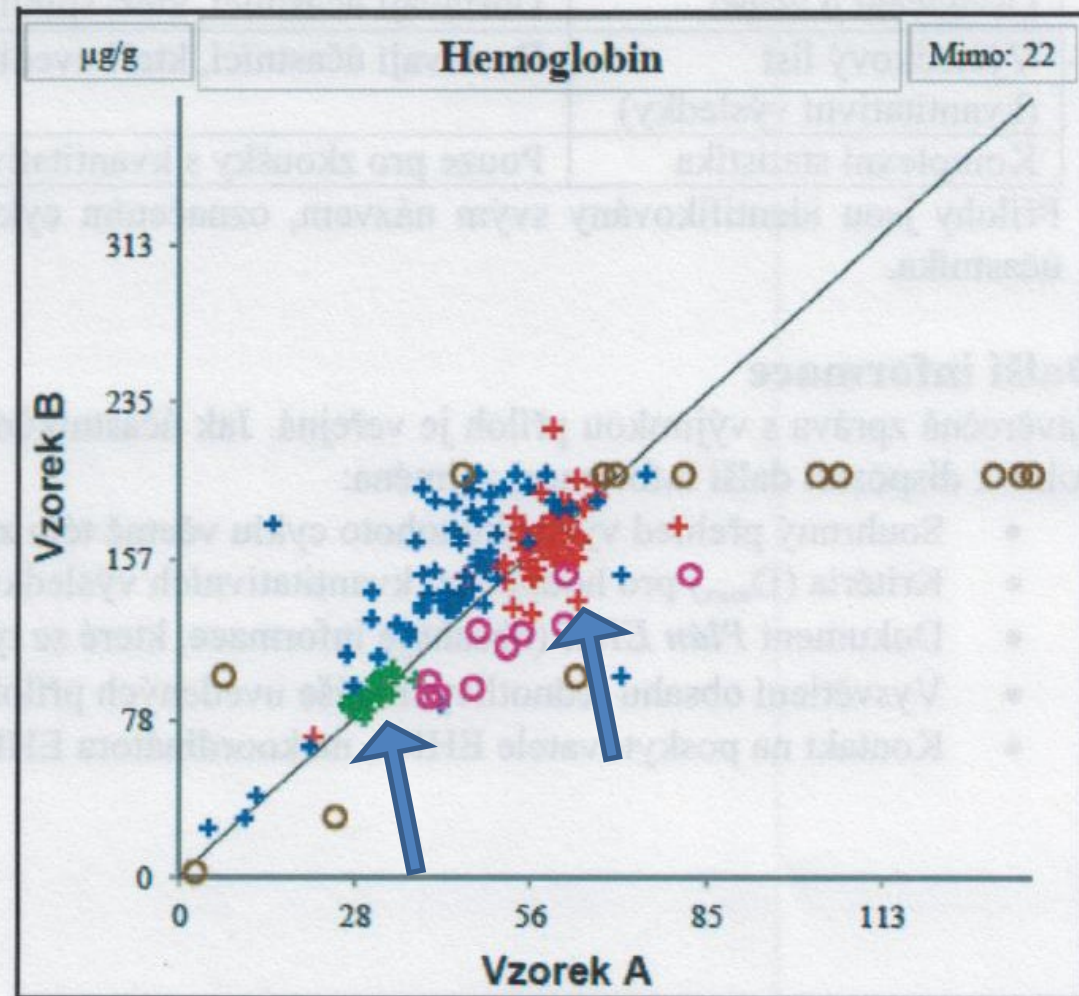
Graf demonstruje tyto skutečnosti:

1. Velmi dobrou reprodukovatelnost výsledků ve skupinách Eiken a Sentinel.
2. Průměry výsledků měření v jednotlivých skupinách se významně liší (proto v tomto programu hodnotíme výsledky v rámci skupin).
3. Mimo graf leží 22 výsledků – většinou to jsou výsledky účastníků, kteří nepřepočítali výsledky na jednotku  $\mu\text{g/g}$  nebo se dopustili hrubých chyb při měření.

## Označení skupin v grafu

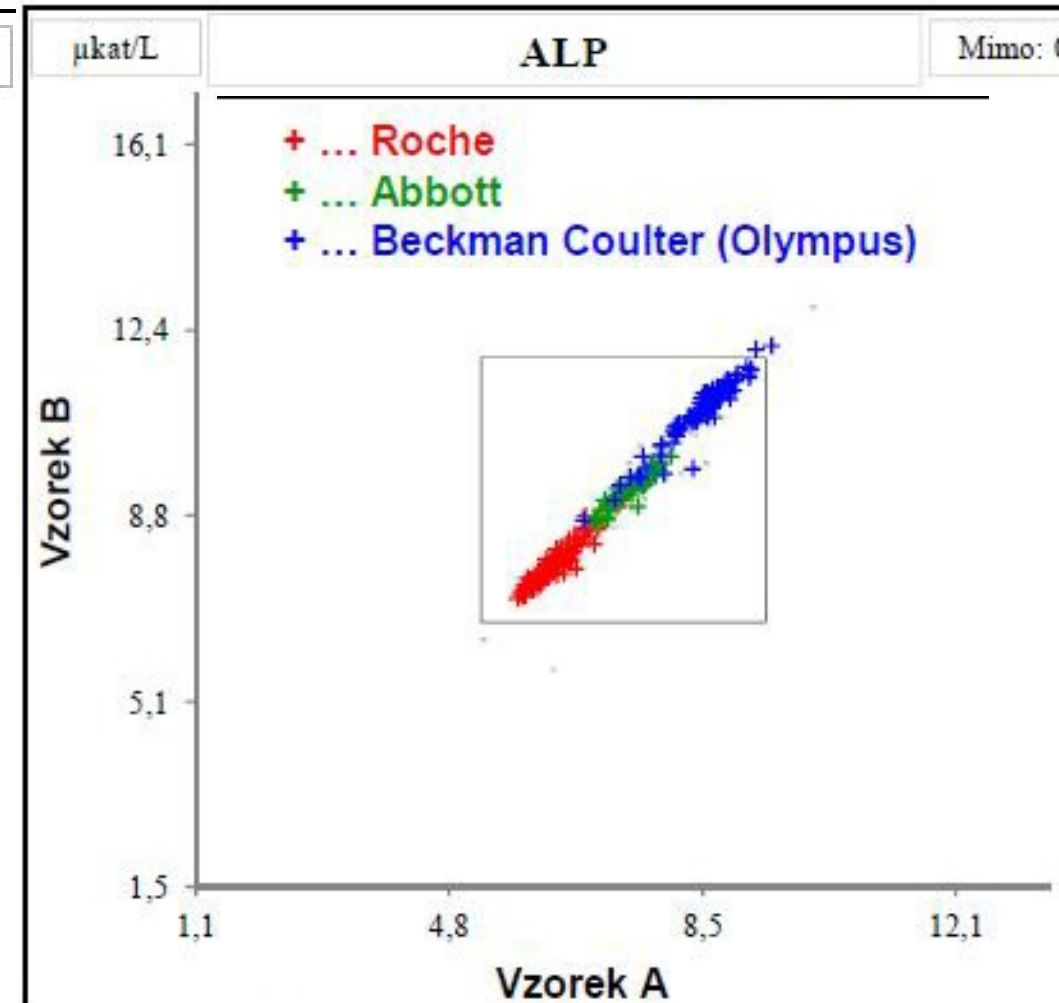
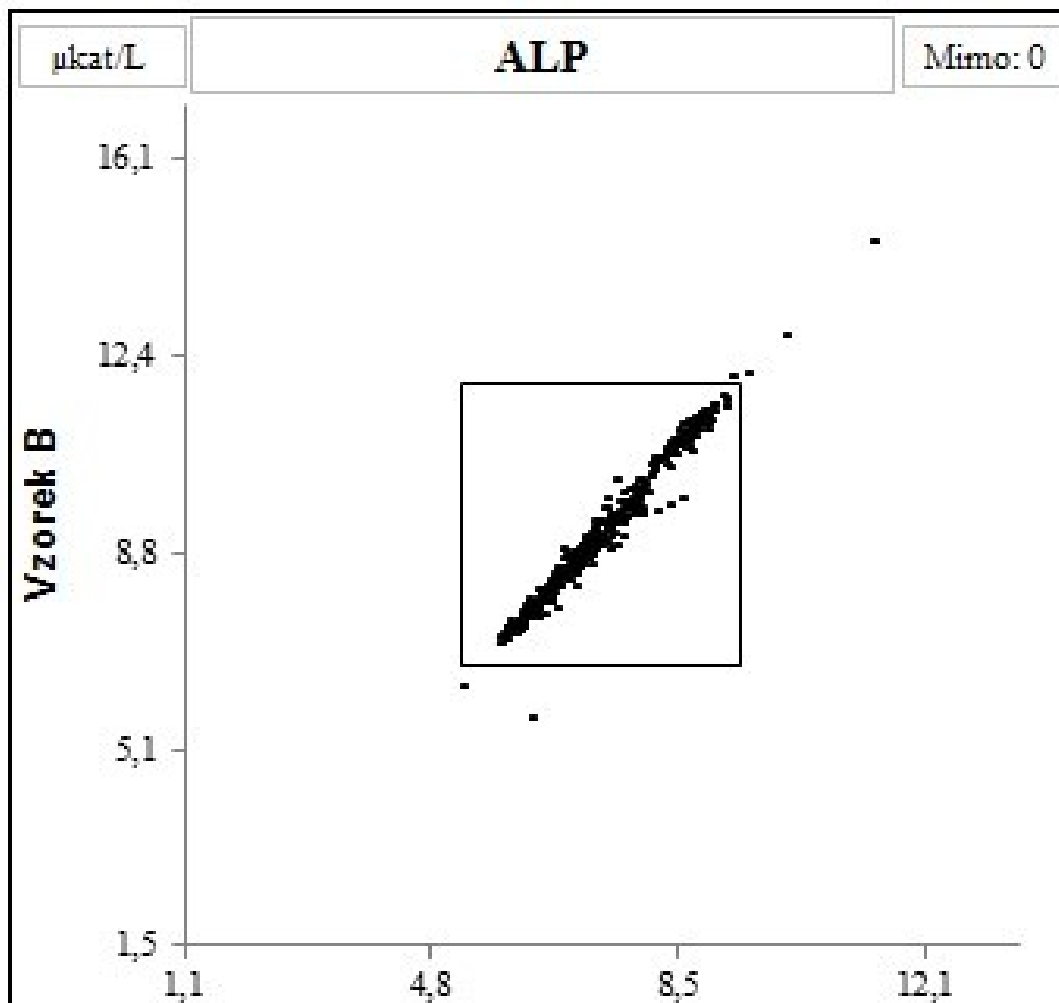
Laboratorní systémy: + ... Eiken  
+ ... Sentinel

POCT systémy: + ... Aidian (Orion)  
o ... BodiTech  
o ... SD BIOSENSOR



Obecně lze říci, že úspěšnost laboratorních systémů se pohybuje v oblasti 95 %, zatímco POCT systémy dosahují úspěšnosti přibližně 65 %.

# Standardizace metod

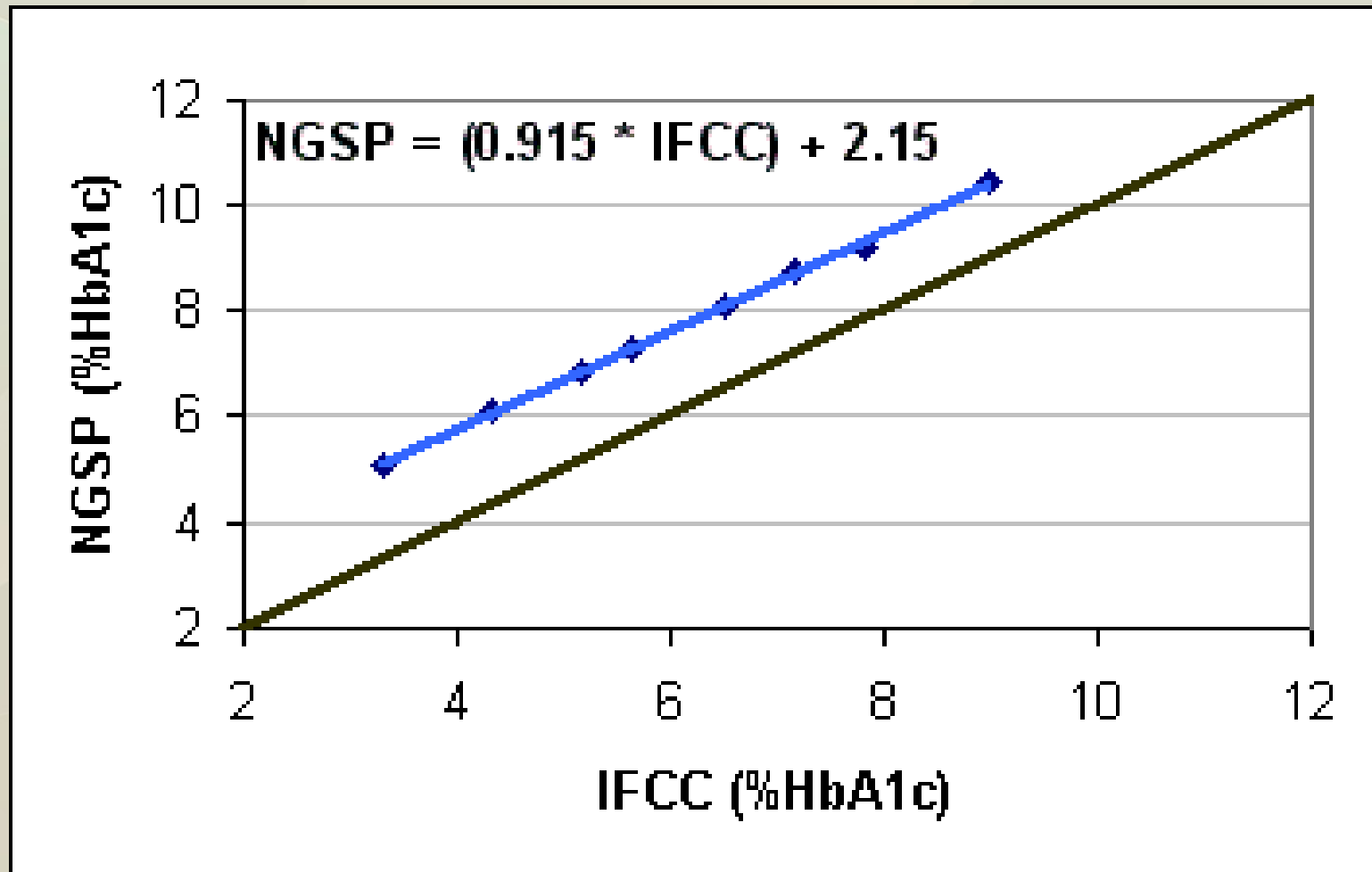


## ALP

V případě stanovení katalytické koncentrace ALP přetrvávají velké rozdíly mezi průměry některých stejnorodých skupin a vztažnou hodnotou (CRV). V tomto cyklu jsme největší záporný bias pozorovali ve skupině Roche (přibližně -15 %), zatímco největší pozitivní bias byl ve skupině Beckman Coulter (Olympus) (přibližně +16 %). Situace se i přesto, že na ni opakovaně upozorňujeme, nelepší a dlouhodobě stagnuje.

Tyto údaje dokumentují přetrvávající neuspokojivý stav realizace návaznosti na referenční metodu ALP IFCC 2011, na který jsme v tomto cyklu reagovali rozšířením použitého kritéria  $D_{\text{max}}$  na 28 % (přibližně dvojnásobek CV)

# Standardizace metod





# Kalibrace

- Vztah mezi signálem a koncentrací analytu ve vzorku
- Materiál použitý pro kalibraci je odvozen od referenčního materiálu - etalonu

# Kalibrace

- Citlivost metody – míra změny signálu ke koncentraci vzorku
- Selektivita/Specificita – míra příspěvku jiných látek než analytu k signálu
  - *Pouze minimum metod chemické analýzy lze označit za specifické. Proto doporučení IUPAC (2001) dává přednost obecnému používání termínu selektivita*

# Referenční materiály a kalibrace





- Porovnání výsledků měření s referenčními materiály je zajištěna jejich pravdivost
- Referenční materiály jsou odvozeny řadou kalibrací k referenčním materiálům vyšší úrovně (čistoty, přesnější metodou stanovení)



# Referenční hodnoty



## Lab. příručka OKB

- A [Obsah a úvod](#)
- B [Info o laboratoři](#)
- C [Manuál pro odběry](#)
- D [Preanalytické procesy](#)
- E [Vydávání výsledků](#)
- F [Seznam vyš. OKB](#)
  -  [FN Brno](#)
  -  [Bohunice](#)
  -  [Dětská nem.](#)
  -  [Porodnice](#)
- G [Pokyny pro pacienty](#)
- H [Novinky](#)
- I [Změnový list](#)
- J [POCT](#)
- K [Revize příručky](#)
- [Archiv](#)

# Česká společnost klinické biochemie



Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně

[česky](#) | [english](#)

[Časopisy](#) | [Doporučení](#) | [Stanoviska](#) | [Spolupráce](#) | [Sekce laborantů](#) | [Kvalita](#) | [Legislativa](#) | [Odkazy](#)



EUROPEAN FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY  
AND LABORATORY MEDICINE

Keep updated with EFLM

[WHO WE ARE](#) | [CONGRESS CALENDAR](#) | [EFLM PUBLICATIONS](#) | [EFLM MEMBERS](#) | [EXECUTIVE BOARD](#) | [GENERAL ASSEMBLY](#)



[Home](#) | [About us](#) | [News](#) | [IFCC eNews](#) | [eJIFCC](#) | [Index by](#)

Advancing excellence in laboratory medicine for better healthcare worldwide

[Executive Board and Council](#) | [Scientific Division](#) | [Education and Management](#) | [Communications and Publications](#) | [Congresses and Conferences](#)



- O PROJEKTU LABTESTSONLINE
- O LABORATORNÍM VYŠETŘENÍ
- NOVINKY
- OBSAH STRÁNEK A-Z ▶
- PODMÍNKY UŽITÍ

## Amoniak

poslat stránku e-mailem  
 vytisknout stránku

Další název: Amonný kation, NH<sub>3</sub>  
 Oficiální název: NH<sub>4</sub><sup>+</sup>  
 Související vyšetření: Jaterní profil

- [Základní informace](#)
[Vyšetřovaný parametr](#)
[Vyšetření](#)
[Informace o laboratorním vyšetření](#)
[Časté otázky](#)
- [Zeptejte se nás](#)
[Literatura a odkazy](#)

**Co je vyšetřováno?**

Toto vyšetření měří množství amoniaku v krvi. Amoniak je látka, která je tvořena střevními **bakteriemi** a buňkami organismu při štěpení a přeměně **proteinů**. Jedná se o degradační produkt, který je přenášen do jater, kde je rozkládán na glutamin a **močovinu**. Močovina je dále transportována do ledvin a následně vyloučena do moči. Pokud „močovinový cyklus“ nedostatečně přeměňuje amoniak, amoniak se hromadí v krvi a prochází před hemato-encefalickou bariérou do mozku. Dalším zdrojem amoniaku jsou ledviny a svaly.

V mozku se amoniak a další látky nedostatečně přeměněné játry mohou hromadit a vést k jaterní **encefalopatii**. Tento stav vyvolá duševní a neurologické změny, které se projevují neklidem, desorientací, spavostí, až kómatem či smrtí. Děti se zvýšenou koncentrací amoniaku často zvrací, jsou vznětlivé, ale i letargické. Bez léčby se objevují křeče, poruchy dechu a upadnutí do bezvědomí.

Existuje několik příčiny zvýšení amoniaku:

- **Závažné jaterní onemocnění** – poškození jater snižuje jejich schopnost přeměňovat amoniak, **akutní** zvýšení amoniaku nacházíme u pacientů s jaterním poškozením, u kterých se rozvíjí krvácení do trávicího traktu nebo nerovnováha iontů (porucha vnitřního prostředí).
- **Snížení průtoku krve játry** – amoniak se pomaleji dostává do jater, kde je přeměňován.
- **Reyeův syndrom** – vzácné poškození krve, jater a mozku je charakterizováno zvýšením amoniaku a poklesem **glukózy**, postihuje zejména děti a mladistvé. Většina případů je vyvolána virovou **infekcí**. Zvýšené riziko je u dětí, kterým je podáván aspirin (**kyselina acetylosalicylová, acylpyrin**)
- **Selhání ledvin** – ledviny nejsou schopné účinně vylučovat amoniak z těla, a tak se hromadí v krvi.
- **Vzácné vrozené poruchy močovinového cyklu** – nedostatečnost nebo chybění jednoho nebo více **enzymů** potřebných k přeměně amoniaku na močovinu.

### Generální partneři:



### Partneři:





# Analýza

- Rutinní / statimová vyšetření / vitální indikace
- Automatické analyzátory / speciální metody
- Různí výrobci přístrojů / dodavatelé reagensů / různé principy vyšetření
- Harmonizace vyšetření / referenční systém

# Zavedení nové metody

- Při přijetí nové metody je potřeba provést její validaci/verifikaci
  - **Validace** je proces ověřování, že specifikované požadavky jsou přiměřené pro zamýšlené použití.
  - Je třeba definovat preciznost, pravdivost, mez detekce, mez stanovitelnosti, selektivitu, rozsah, linearitu, robustnost
  - **Verifikace** je poskytnutí objektivního důkazu, že daná položka splňuje specifikované požadavky.
  - Ověření specifikací metod výrobce, především nejistota měření

# Parametry analytických metod

- **Mez detekce**

- Minimální množství analytu, které může být zachyceno danou metodou, výsledná hodnota ovšem nemusí odpovídat nejistotě měření meze stanovitelnosti ( $3s$ )

- **Mez stanovitelnosti**

- Minimální množství analytu, které může být stanoveno s danou nejistotou měření ( $10s$ )

- **Pracovní interval (rozsah metody)**

- Rozpětí koncentrace analytu uzavřené minimální a maximální mezí stanovitelnosti



# Chyby měření

- Chybou měření rozumíme rozdíl mezi skutečnou a naměřenou hodnotou
- Můžeme je rozdělit na **chyby náhodné, systematické a hrubé**

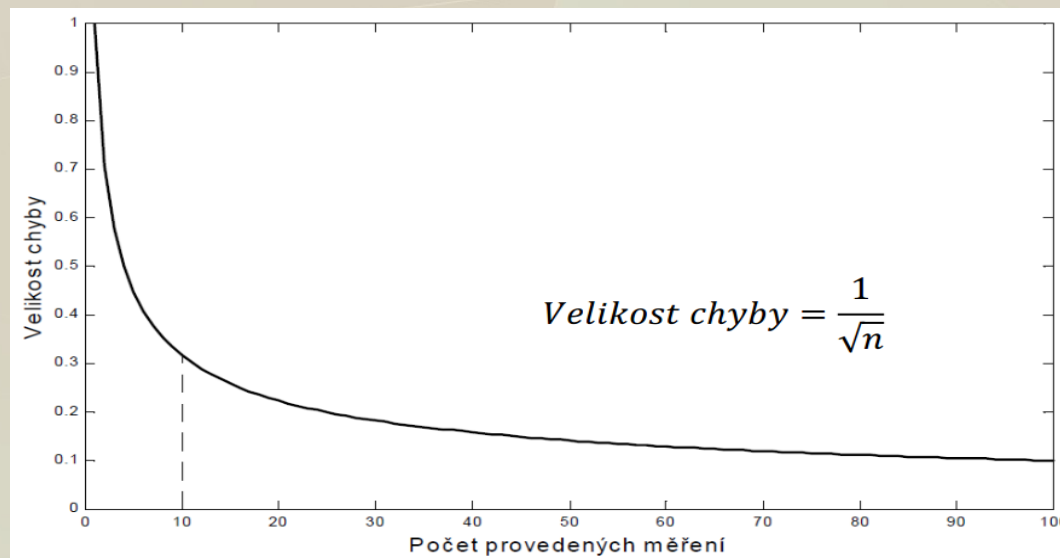
# Chyby měření

## hrubé chyby

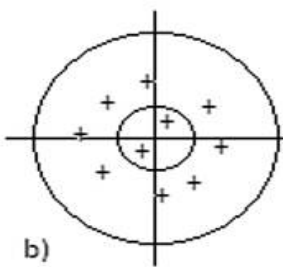
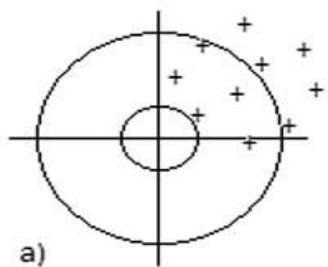
- Chyby měření způsobené nepozorností, nesprávným postupem, chybou přístroje
- Lze je odhalit pouze opakovaným měřením
- Vybočují ze souboru ostatních opakování (outliers) a dají se odhalit a vyloučit pomocí testování odlehlých hodnot
- Q-test, Grubbsův, Studentův, Cochranův

# Chyby měření - náhodné chyby

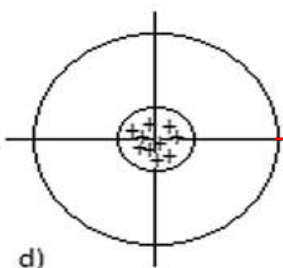
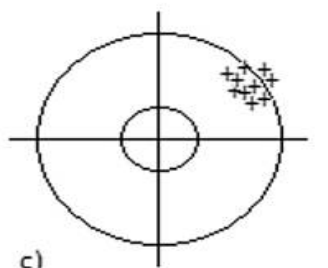
- Složka chyby měření, která se v opakovaných měřeních mění nepředvídatelným způsobem
- Má normální (Gaussovo) rozdělení s nulovou střední hodnotou a rozptylem
- Její vliv na nejistotu výsledku lze zmenšit zvýšením počtu stanovení



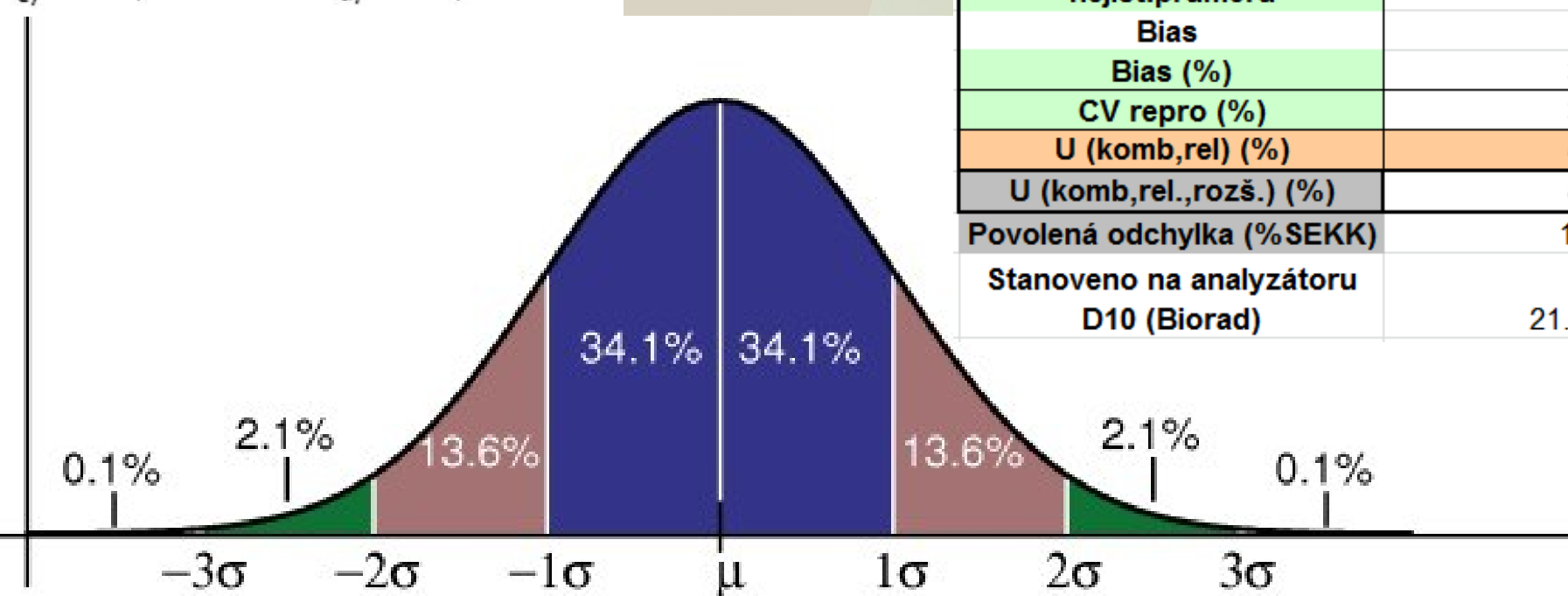
# Chyby měření - náhodné chyby



Nízká  
preciznost  
měření



Vysoká  
preciznost  
měření



analyt	HbA1c
materiál	KD1/17 A (5019)
jednotky	[mmol/mol]
Target Value	42,8
nejist.TV (%)	1,3
1	45
2	44
3	44
4	44
5	44
6	44
7	44
8	45
9	46
10	45
průměr	44,5
sm.odch.opakovatelnosti	0,67
CV opak (%)	1,51
nejist.průměru	0,48
Bias	1,70
Bias (%)	3,97
CV repro (%)	3,15
U (komb,rel) (%)	5,26
U (komb,rel.,rozš.) (%)	8,44
Povolená odchylka (%SEKK)	14,00
Stanoveno na analyzátoru D10 (Biorad)	21.9.2017

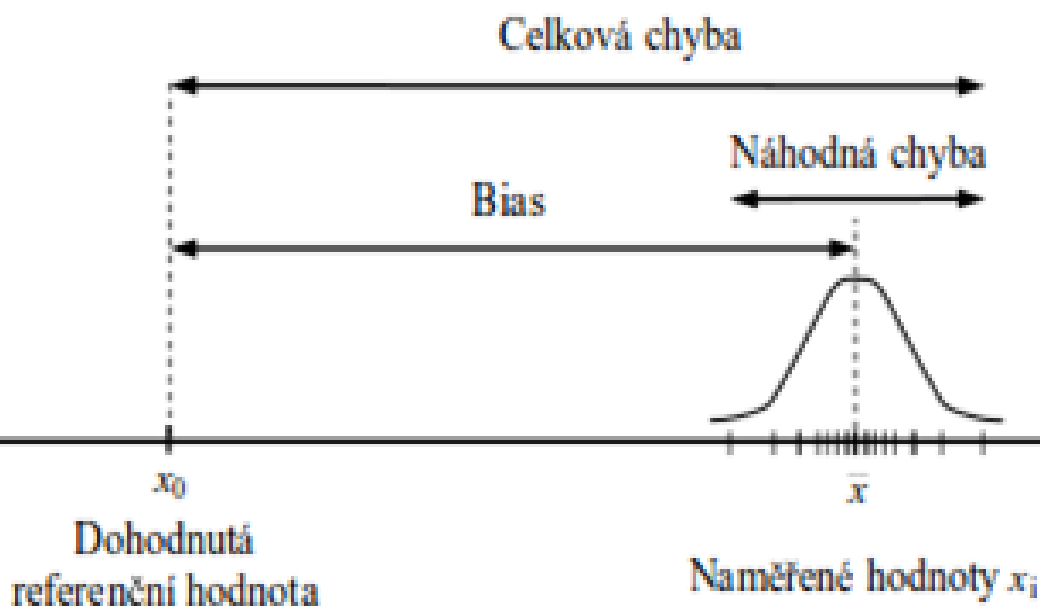
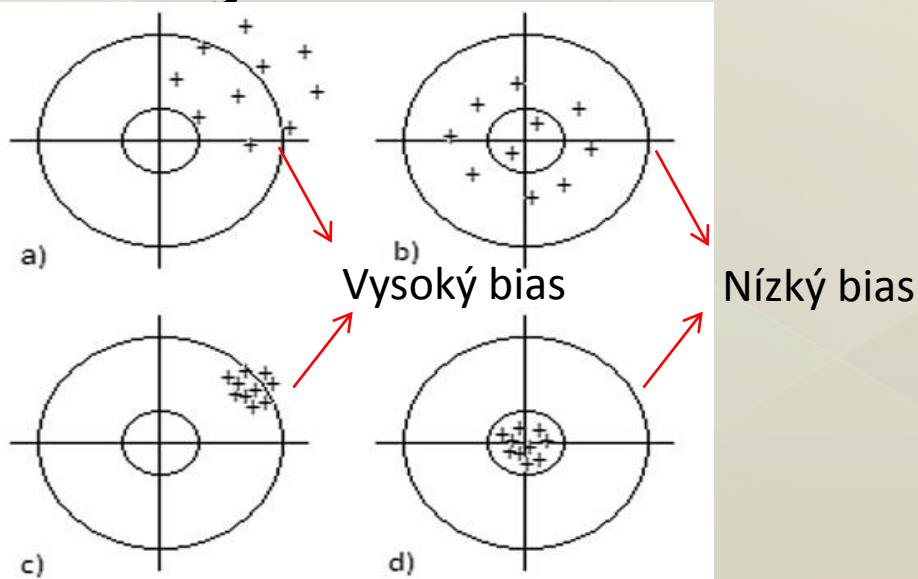


# Chyby měření

## systematické chyby

- Složka chyby měření, která v opakovaných měřeních zůstává konstantní nebo se mění předvídatelným způsobem
- Systematická chyba měření a její příčiny mohou být známé nebo neznámé. Ke kompenzaci známé systematické chyby měření může být aplikována korekce

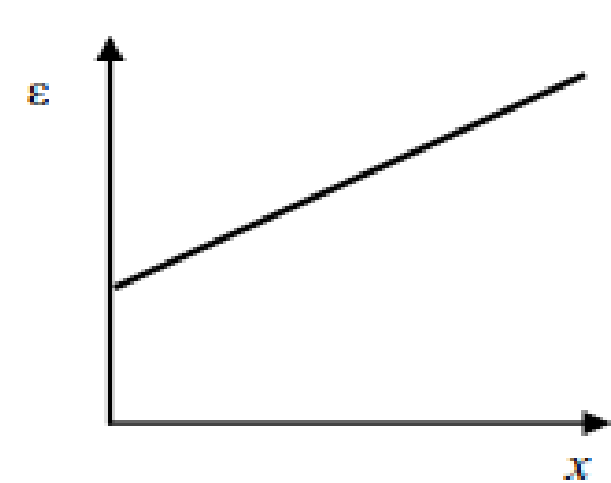
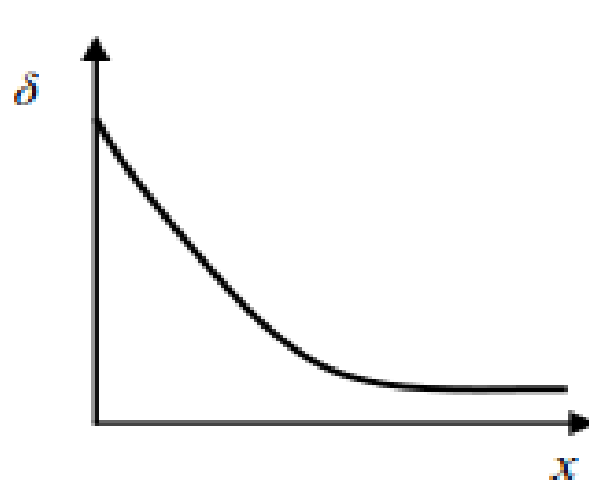
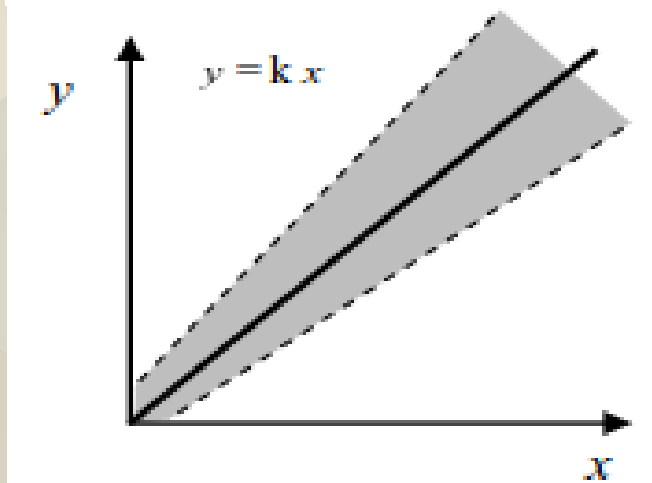
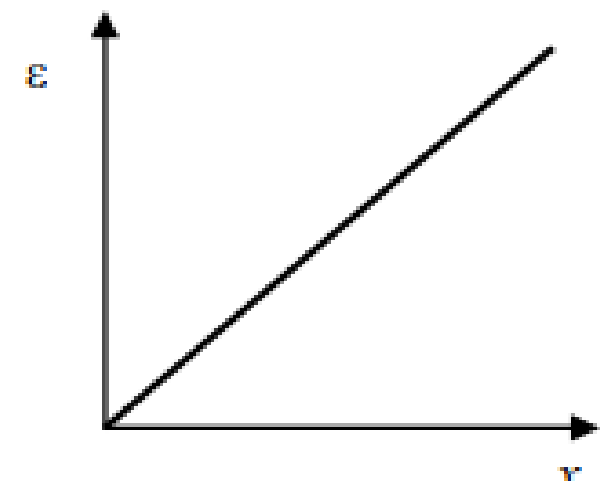
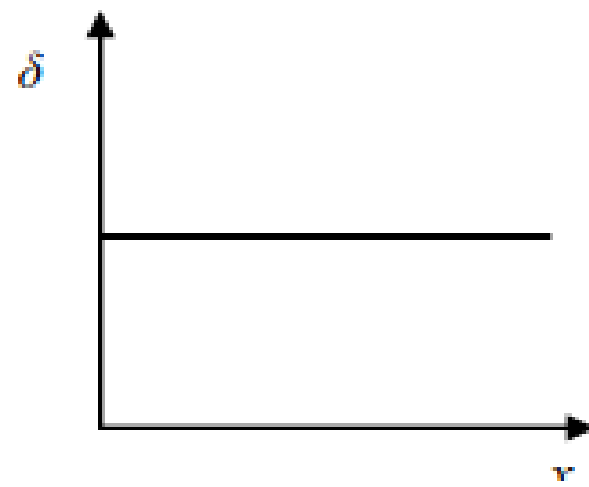
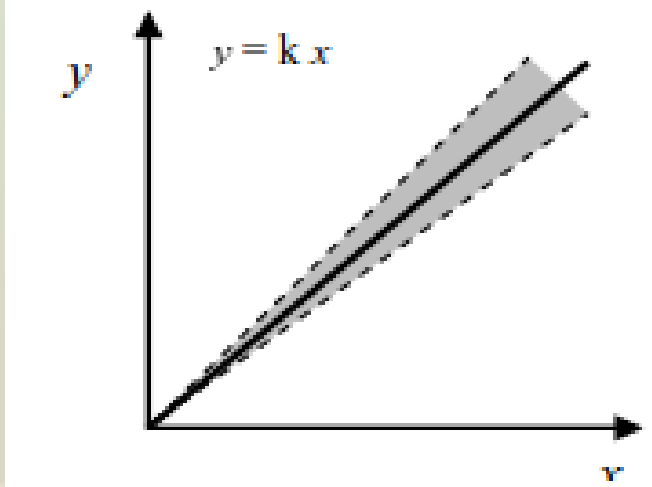
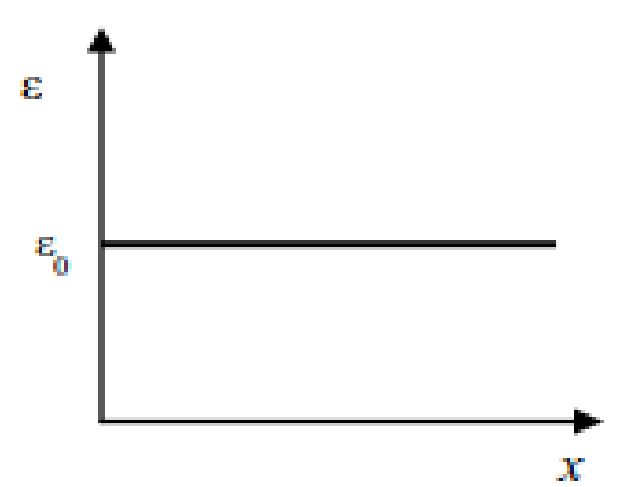
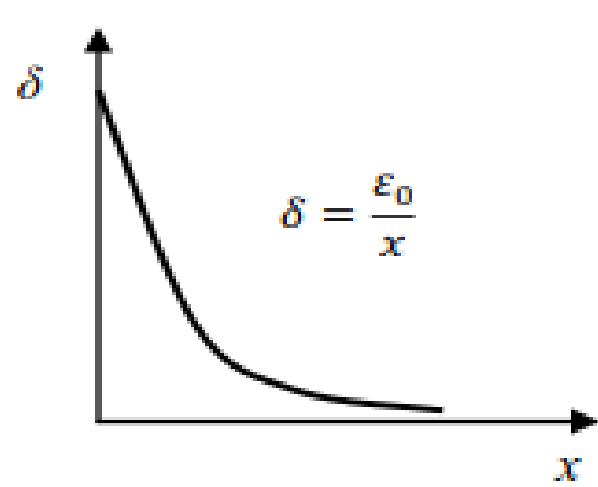
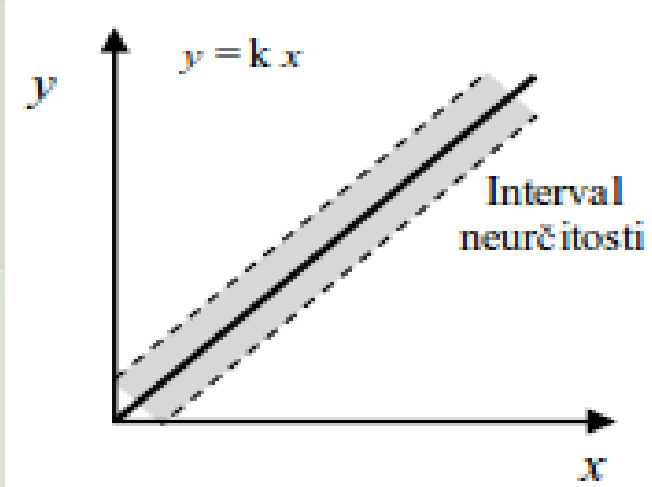
# Chyby měření - systematické



analyt	HbA1c
materiál	KD1/17 A (5019)
jednotky	[mmol/mol]
Target Value	42,8
nejist.TV (%)	1,3
1	45
2	44
3	44
4	44
5	44
6	44
7	44
8	45
9	46
10	45
průměr	44,5
sm.odch.opakovatelnosti	0,67
CV opak (%)	1,51
nejist.průměru	0,48
Bias	1,70
Bias (%)	3,97
CV repro (%)	3,15
U (komb,rel) (%)	5,26
U (komb,rel.,rozš.) (%)	8,44
Povolená odchylka (%SEKK)	14,00
Stanoveno na analyzátoru D10 (Biorad)	21.9.2017

# Parametry analytických metod

- **Nejistota měření**
- Parametr přidružený k výsledku měření, který charakterizuje míru rozptýlení hodnot, které by mohly být důvodně přisuzovány měřené veličině
- Parametrem může být např. směrodatná odchylka nazývaná standardní nejistota měření (nebo její specifikovaný násobek), nebo polovina šířky intervalu, který má stanovenou pravděpodobnost pokrytí.
- Kombinovaná standardní nejistota se určí po identifikaci a vyhodnocení všech složek (dílčích nejistot), které k ní přispívají, jejich sloučením dle zákona o šíření nejistot.
- **Kombinovaná standardní nejistota** násobená koeficientem rozšíření poskytuje kombinovanou rozšířenou nejistotu:
- $U_c = k \cdot u_c$  ( $k=2$  odpovídá 95% hladině spolehlivosti )

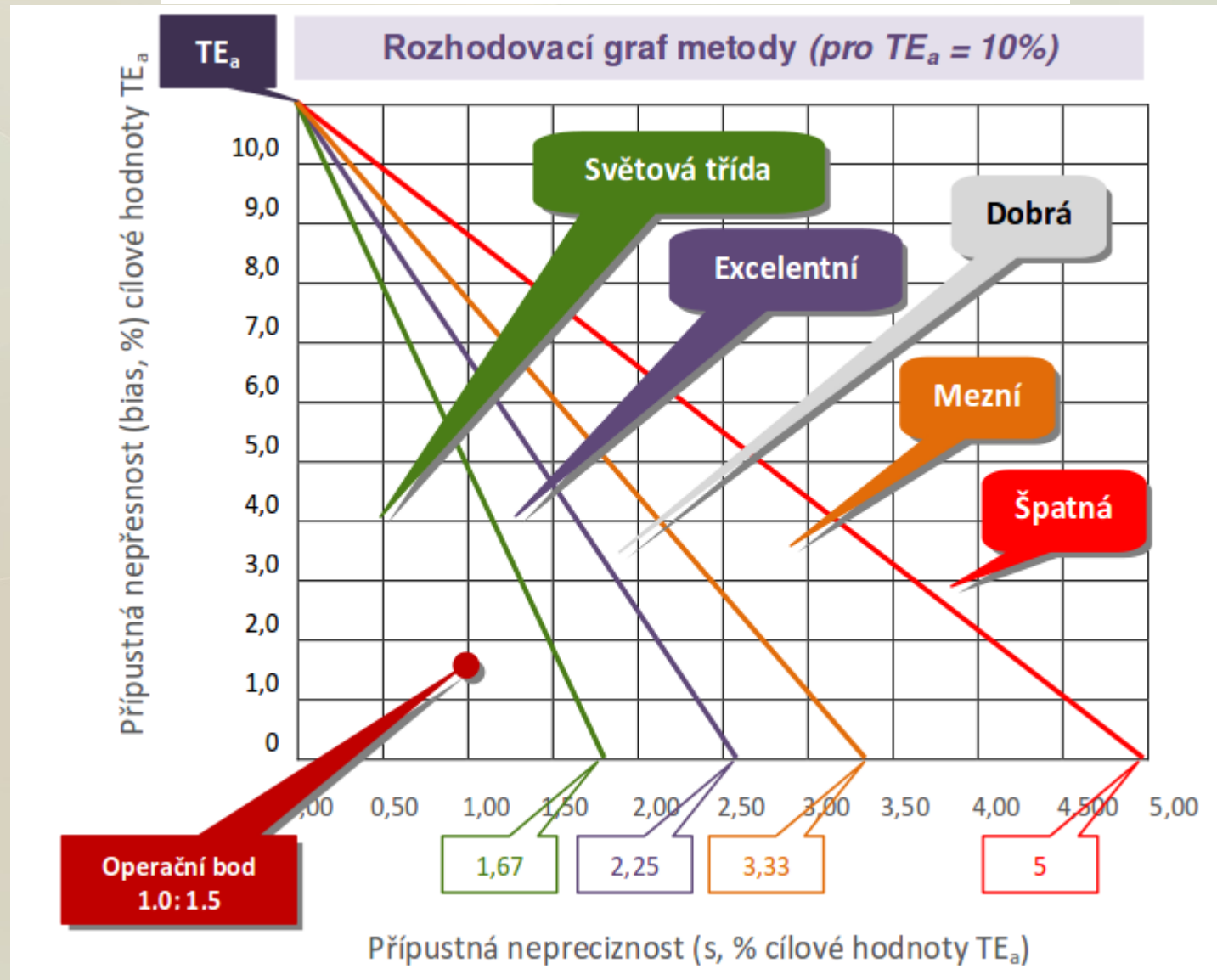




# Chyby měření

$$TE_a (\%) \leq 1,65 \cdot \frac{2}{8} \cdot CV_i + \frac{1}{8} \sqrt{CV_i^2 + CV_g^2}$$

- Jaká je maximální povolená chyba?
- Odvozená z biologické variability



# Laboratorní vyšetření

\*A - akreditováno

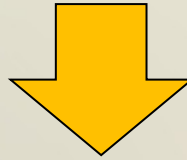
název vyšetření	Albumin S/P-Alb	
pracoviště	OKB Bohunice / rutinní tel. 3168, statim+pohot. 3057	
materiál		sérum/plazma
odezva - RUTINA - STATIM	denně 60-120 minut	
odb. nádoba RUTINA	Sarstedt	Monovette: Serum Gel 4.9ml - hnědá
odb. nádoba STATIM	Sarstedt	Monovette: Li Heparin 4.9/5.5ml - oranžová
pokyny k odběru	běžný odběr - bez zvláštních opatření	
stabilita před přijetím	čas teplota	°C
stabilita v laboratoři	čas teplota	5 měsíců 2 - 8 °C
jednotka	g/l	( váhová koncentrace )
přepočít jednotek		
analytická nejistota měření	5,2%	
metoda	fotometrie endpoint, s bromkrezolovou zelení	
SOP - číslo - název	37421805 Stanovení albuminu fotometricky (analyzátor Cobas Roche)	
klíč NČLP	00507	
vykazování pro pojišťovnu RUTINA STATIM	výkon 81329 81115	body 14 22

# Referenční hodnoty pacientů

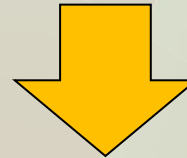
- Lze je získat analýzou zdravé populace pacientů, musí být dobře definovaní
  - Statistické rozlišení rozdílů mezi skupinami – muži, ženy, dospělí, děti....
  - 95% rozpětí (horní a dolní 2,5 % se vyloučí)
- Na základě odborného konsenzu
  - Zdravotní rizika začínají na nižší hladině, než ukazuje populační rozpětí
- Data výrobce metody

GIGO => „Garbage in....

Pre-analytická chyba



Analytická chyba



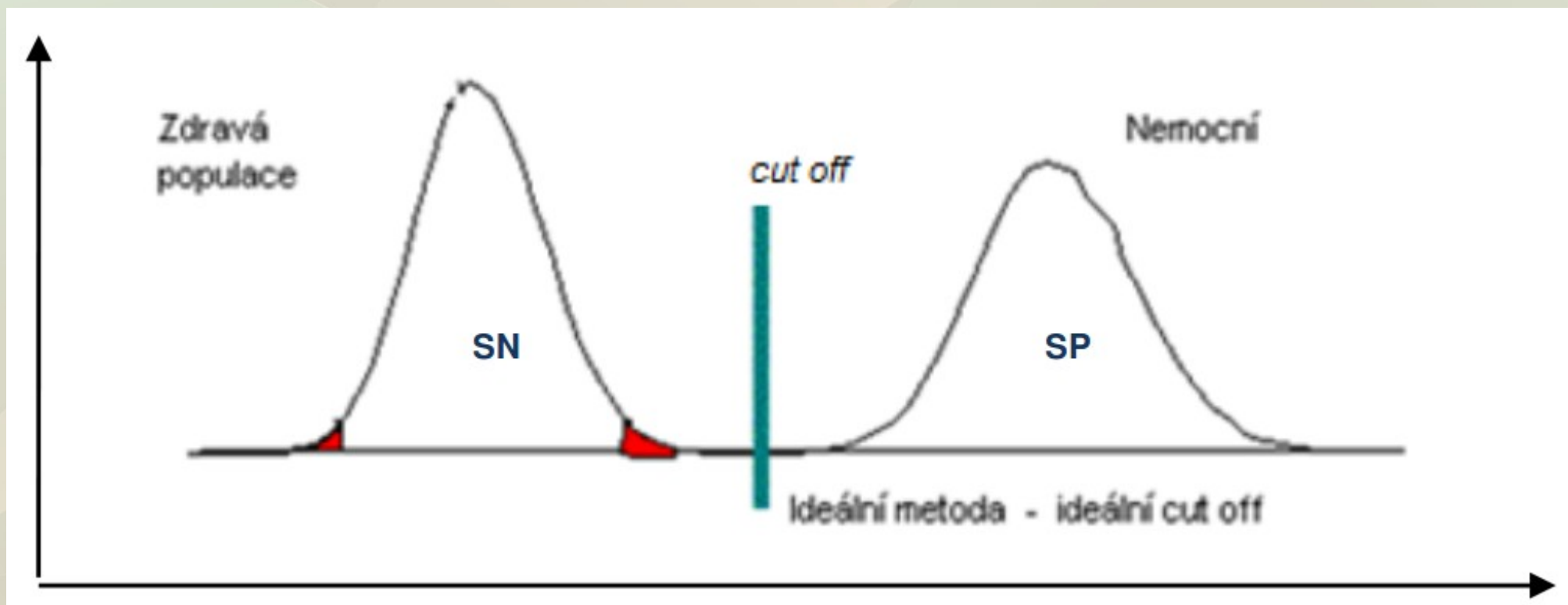
Post-analytická chyba

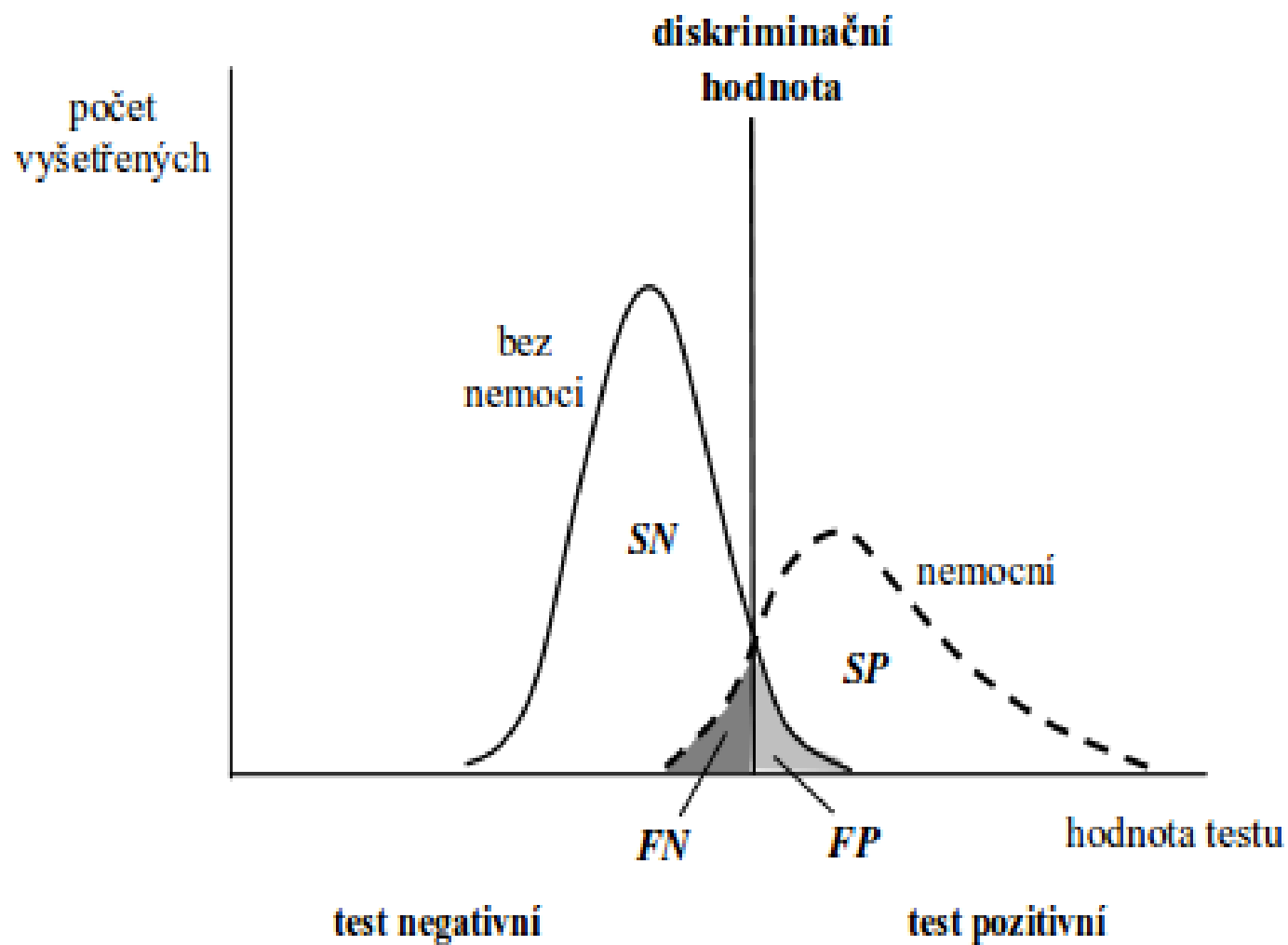
GIGO => ...garbage out“

**Dodržovat postupy!**

Zvyšující se celková chyba







*SN* ... zdraví s negativním testem  
(správná negativita)

*FN* ... nemocní s negativním testem  
(falešná negativita)

*SP* ... nemocní s pozitivním testem  
(správná pozitivita)

*FP* ... zdraví s pozitivním testem  
(falešná pozitivita)

# Diagnostická efektivita analýzy

## Specificita metody

- Schopnost měřícího postupu detekovat pouze cílený analyt

$$\text{Diagnostická specificita} = \frac{\text{zdraví s negativním testem}}{\text{všichni testovaní zdraví}} = \frac{SN}{SN + FP}$$

- Ceněna obzvláště u testů pro stanovení konečné diagnózy a závažných onemocnění (intervence značně poškozuje pacienta)

Počet vyšetřených osob	S nemocí	Bez nemoci	Celkem
S pozitivním testem	<i>SP</i>	<i>FP</i>	<i>SP + FP</i>
S negativním testem	<i>FN</i>	<i>SN</i>	<i>SN + FN</i>
Celkem	<i>SP + FN</i>	<i>SN + FP</i>	<i>SP + SN + FP + FN</i>

# Diagnostická efektivita analýzy

- **Senzitivita metody** (citlivost)
- Schopnost měřicího postupu zachytit i malé množství analytu

$$\text{Diagnostická senzitivita} = \frac{\text{nemocní s pozitivním testem}}{\text{všichni testovaní nemocní}} = \frac{SP}{SP + FN}$$

- Ceněna obzvlášť u screeningových testů pro včasný záchyt onemocnění a onemocnění kde by byl pacient bez intervence značně poškozen

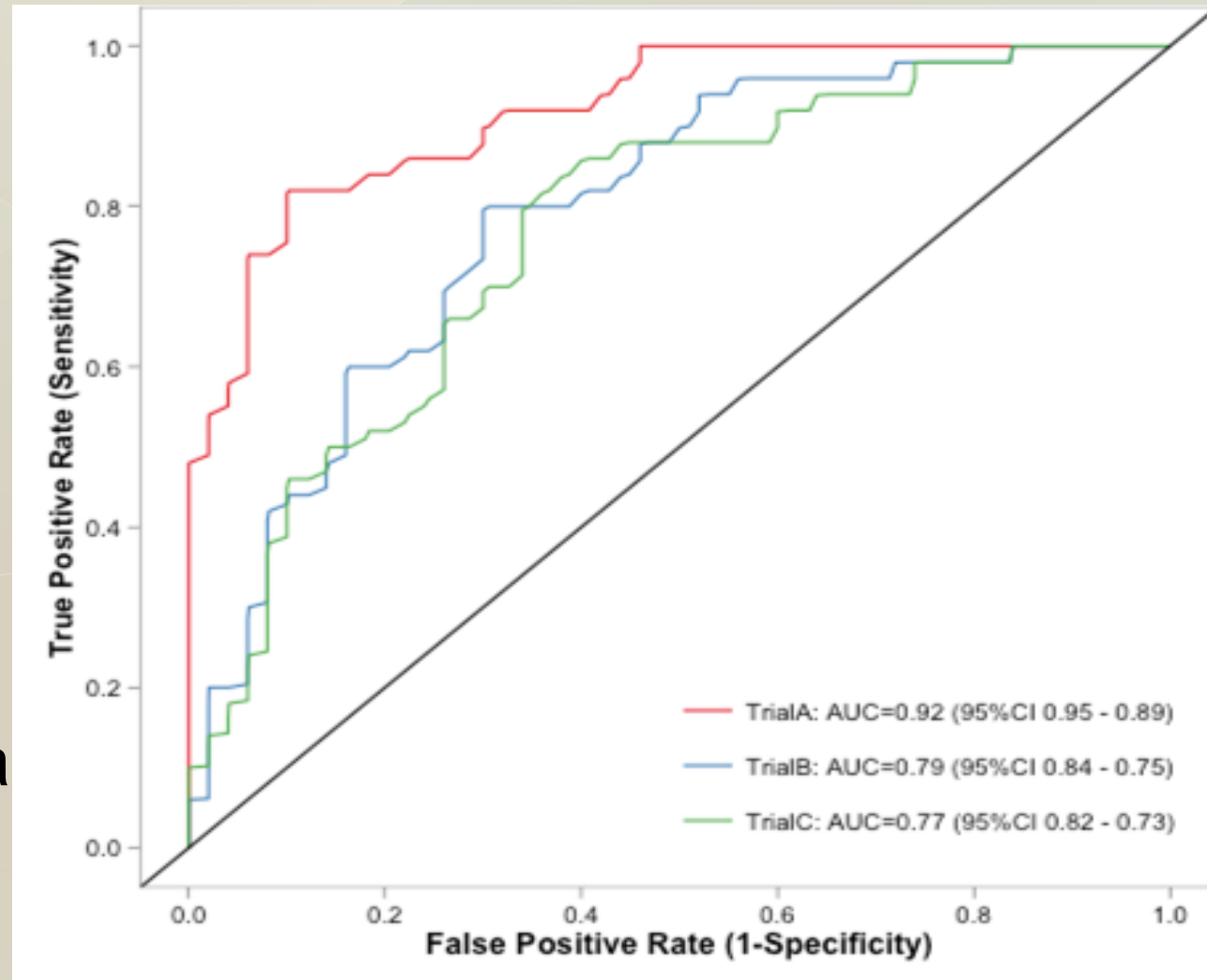
Počet vyšetřených osob	S nemocí	Bez nemoci	Celkem
S pozitivním testem	<i>SP</i>	<i>FP</i>	<i>SP + FP</i>
S negativním testem	<i>FN</i>	<i>SN</i>	<i>SN + FN</i>
Celkem	<i>SP + FN</i>	<i>SN + FP</i>	<i>SP + SN + FP + FN</i>



# ROC křivka

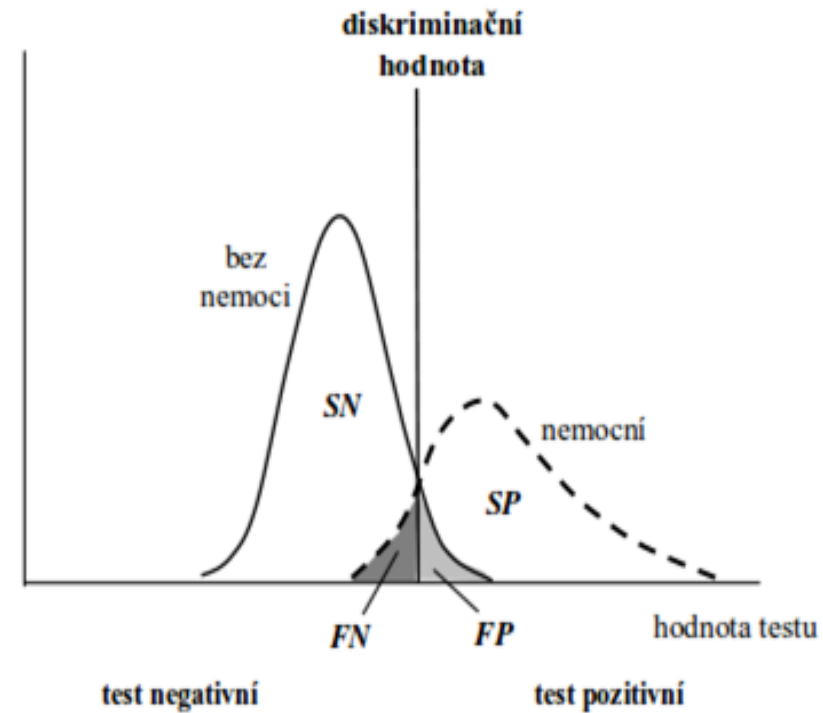
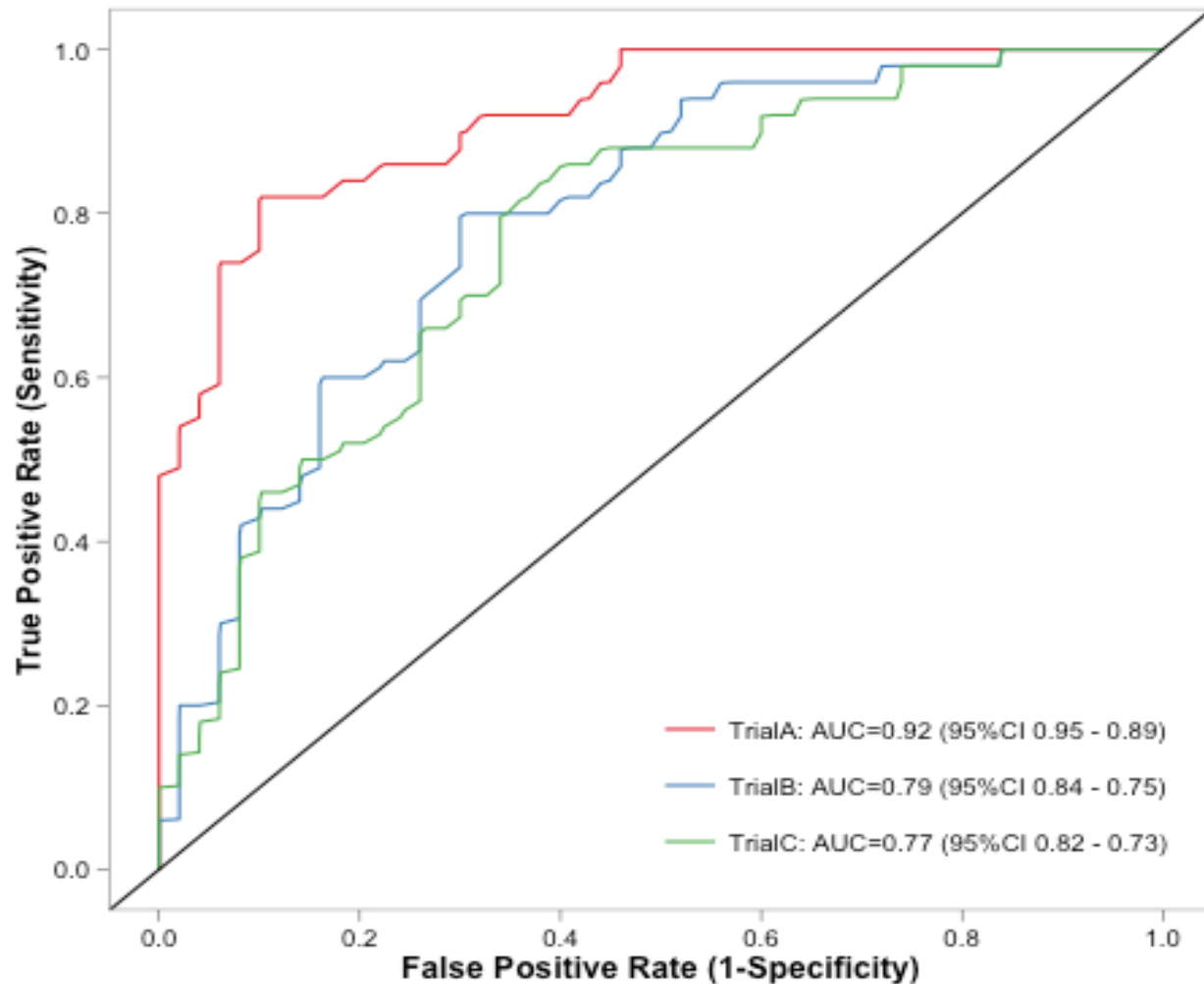
(Receiver operating characteristic plot)

- Grafické vyhodnocení diskriminačních schopností testu.
- Sestrojuje se vynesáním hodnot klinické citlivosti (osa y) proti hodnotám klinické nespecifičnosti (osa x) pro všechny rozhodovací úrovně.



# ROC křivka

(Receiver operating characteristic plot)



- AUC kvantifikuje diagnostickou správnost zkoušky

- citlivosti, specifčnosti, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty a klinická věrohodnost

# Likelihood ratio

(věrohodnostní poměr)

$$LR_+ = \frac{\text{sensitivity}}{1 - \text{specificity}}$$

- Poměr sensitivity a nespecificity (směrnice ROC v cutoff hodnotě)
- Kolikrát je vyšší šance, že pacient s pozitivním testem má danou chorobu, než že se jedná o FP

$$LR_- = \frac{1 - \text{sensitivity}}{\text{specificity}}$$

- Poměr nesensitivity a specificity
- Kolikrát je vyšší šance, že pacient s negativním testem má danou chorobu, než že se jedná o TN

# Prediktivní hodnoty

- Pozitivní prediktivní hodnota
- Pravděpodobnost, že osoba s pozitivním testem je opravdu nemocná

$$PV^+ = \frac{\text{nemocní s pozitivním testem}}{\text{všichni s pozitivními testy}} = \frac{SP}{SP + FP}$$

- Negativní prediktivní hodnota
- Pravděpodobnost, že osoba s negativním testem je opravdu zdravá

$$PV^- = \frac{\text{zdraví s negativním testem}}{\text{všichni s negativními testy}} = \frac{SN}{SN + FN}$$

HEALTHY

DISEASED

99800

200

Screening test

Specificity - 94,3 %

Sensitivity - 95 %

TN = 94111

FN = 10

FP = 5689

TP = 190

OAPR<sub>1</sub> = 190:5689 = 1:30

Diagnostics test

Specificity - 99,5 %

Sensitivity - 99 %

TN = 5661

FN = 2

FP = 28

TP = 188

OAPR<sub>2</sub> = 188:28 = 7:1



- Prevalence
- Míra zastoupení nemoci v populaci

$$\text{Prevalence} = \frac{\text{nemocní}}{\text{všichni vyšetřovaní}} = \frac{SP + FN}{SP + FN + SN + FP}$$

- Diagnostická efektivita
- vyjadřuje počet správně určených stavů ke všem nesprávně určeným

$$OR = \frac{SP \cdot SN}{FP \cdot FN}$$

**Děkuji za pozornost**