

Praktické cvičení č. _____ datum _____ jméno _____

Téma praktika:

Automatická imunoanalýza – stanovení tumorových, anemických, kardiálních a dalších markerů; ROC analýza

Okruhy k nastudování a dotazy:

- 1) Seznamte se s protokolem tak, abyste dokázali vysvětlit, k čemu slouží ROC analýza.
- 2) Nastudujte princip přístroje Kryptor compact plus (ThermoScientific) a princip modulu e801 (Roche).
- 3) Stručně vysvětlete kompetitivní a nekompetitivní imunoanalýzu.
- 4) Mezi jaké markery patří vitamin B12, folát a ferritin?

Přístroje a pomůcky:

**Brahms Kryptor compact plus (ThermoScientific)
Cobas 8000 - modul e 801 (Roche Diagnostic)**

Úkoly:

1. Na přístroji Cobas 8000 – modul e801:

- a) Proveďte analýzu β_2 mikroglobulinu u několika rutinních vzorků a okomentujte výsledky z hlediska klinického významu. Nejprve však zjistěte a запиšte, zda je interní kontrola kvality (IKK) měřená daný den ráno v požadovaném rozmezí a na palubě přístroje je dost reagensů.

| Pacient č. | Výsledek | Referenční meze | Komentář |
|------------|----------|-----------------|----------|
| 1 | | | |
| 2 | | | |
| 3 | | | |

- b) V LIS vyhledejte a okomentujte další čtyři pacienty s IgE (2) a C-peptid (2). Opět ověřte a запиšte, zda je interní kontrola kvality (IKK) měřená daný den ráno v požadovaném rozmezí a na palubě přístroje je dost reagensů.

| Pacient č. | Výsledek | Referenční meze | Komentář |
|------------|----------|-----------------|----------|
| 1 | | | |

2

3

4

b) Uveďte princip přístroje – v krátkosti.

c) V LIS vyhledejte a okomentujte pacienty se změřeným volným a celkovým PSA, případně i p2PSA. Vypočítejte poměr freePSA/tPSA a výsledek interpretujte. U pacientů s dostupnými hodnotami p2PSA vypočítejte index zdraví prostaty PHI a interpretujte výsledek.

| Pacient č. | free PSA | total PSA | Poměr free/total | p2PSA | PHI |
|------------|----------|-----------|------------------|-------|-----|
| 1 | | | | | |
| 2 | | | | | |
| 3 | | | | | |

2. Dále na přístroji cobas 8000 modul e801:

a) U jednoho vzorku změřte hladinu folátu (sledujte nabírání vzorku, inkubaci i speciální mytí) – metoda trvá 27 min., neboť se analyt musí nejdříve uvolnit z komplexu.

b) Dle referenčních mezí nalezených v LIS vyhodnoťte a okomentujte naměřený výsledek.

c) Vyfiltrujte všechny vzorky, u kterých byl stanoven ferritin na modulu e801 (stanovení se provádí rutinně v séru).

d) V LIS vyhledejte a z klinického hlediska posuďte několik pozitivních pacientů, u kterých byly stanovovány následující parametry: vitamin B12, folát, ferritin, PCT a troponinT.

| Pacient č. | Výsledek | Ref. rozmezí – Cut off | Komentář |
|------------|----------|------------------------|----------|
| 1 | | | |
| 2 | | | |
| 3 | | | |

4

5

3. Dále na přístroji Brahms Kryptor compact plus:

- a) V LIS vyhledejte a z klinického hlediska posuďte několik pacientů, u kterých byl opakovaně stanovován kopeptin.

| Pacient č. | Výsledek | Ref. rozmezí – Cut off | Komentář |
|------------|----------|------------------------|----------|
| 1 | a) b) | | |
| 2 | a) b) | | |
| 3 | a) b) | | |

b) Dle referenčních mezí nalezených v příbalovém letáku vyhodnoťte a okomentujte naměřený výsledek.

c) Uveďte princip přístroje – v krátkosti.

Z přiložených dat zpracujte ROC křivku pro $\beta 2$ mikroglobulin v programu MedCalc:

Pacienti 60let a starší:

| Zdraví: [mg/l] | Nemocní: [mg/l] |
|----------------|-----------------|
| 2,31 | 5,30 |
| 2,41 | 3,75 |
| 1,39 | 5,48 |
| 1,82 | 7,33 |
| 2,47 | 3,84 |
| 1,62 | 35,22 |
| 1,48 | 4,09 |
| 1,17 | 10,90 |
| 2,77 | 3,73 |
| 3,50 | 2,00 |
| 1,81 | 3,29 |
| 2,99 | 3,38 |
| 4,94 | 4,01 |
| 2,24 | 1,48 |
| 2,14 | 5,37 |

ROC křivka (operativní charakteristika testu) slouží k posouzení funkce testu – toho, jak test umožňuje rozlišit nemocné od zdravých. Čím strměji probíhá křivka v počáteční oblasti, tím

je lepší rozlišení mezi nemocnými a zdravými. Záleží i na oblasti pod křivkou, čím je větší tato plocha, tím je reakce citlivější a specifitější.

Diagnostická senzitivita (citlivost) – udává procento správně pozitivních výsledků ze souboru nemocných osob. Čím vyšší je senzitivita, tím méně je falešně negativních výsledků. Udává se jako zlomek jedné nebo v procentech.

Diagnostická specifita – udává procento správně negativních výsledků ze souboru zdravých osob. Čím vyšší je specifita, tím méně je falešně pozitivních výsledků. Udává se jako zlomek jedné nebo v procentech.

Funkcí specifity a senzitivity je Youdenův index - ukazatel diagnostické správnosti. Bodu, ve kterém dosahuje nejvyšší hodnoty, odpovídá kritérium (hranice rozlišující zdravé od nemocných) a příslušná senzitivita a specifita.

Postup:

- V programu MedCalc – Data:
- Do prvního sloupce pod název B2MG vložte data zdravých a pod to data nemocných
- Do druhého sloupce pod název Stav ke zdravým napište nulu a k nemocným 1
- Běžte do Statistics – ROC curves – ROC curve analysis – do Variable vyberte B2MG, do Classification variable vyberte Stav - OK

Uveďte specifitu a senzitivitu pro nejvyšší Youdenův index. Dále porovnejte kritérium s rozhodovací mezí (cut off hodnotou) používanou v laboratoři - pro věk 60-110 roků je to 3,00 mg/l:

Závěr:

.....
.....