

# Biochemické testy

Chyby v analytice

Nejistota výsledků

Interpretace testů

Ondřej Wiewiorka



# Standalone analyzátor



# Automatizace laboratoří



# POCT

**ABR, glukometry, coaguceky, stanovení CRP, stanovení kardiálních markerů, markerů aterosklerózy**



# K čemu slouží laboratorní testy?

- Screening
- Určení diagnózy
- Monitorování stavu pacienta
- Monitorování odpovědi pacienta na léčbu
- Disbalance vnitřního prostředí
- Hormonální disbalance
- Markery anémie
- Markery sepse
- Tumormarkery
- Kardiální markery
- TDM
- Renální funkce
- Jaterní funkce

.....

Na kolik důvěřujete laboratornímu výsledku?

Co uděláte pokud si nebudete jisti správností?

Lékař



Preanalytická fáze  
(příprava pacienta, odběr materiálu...)



Analytická fáze  
(správná instrumentace, správné ředění...)



Post-analytická fáze  
(kontrola výsledků vzhledem k historii a diagnóze...)

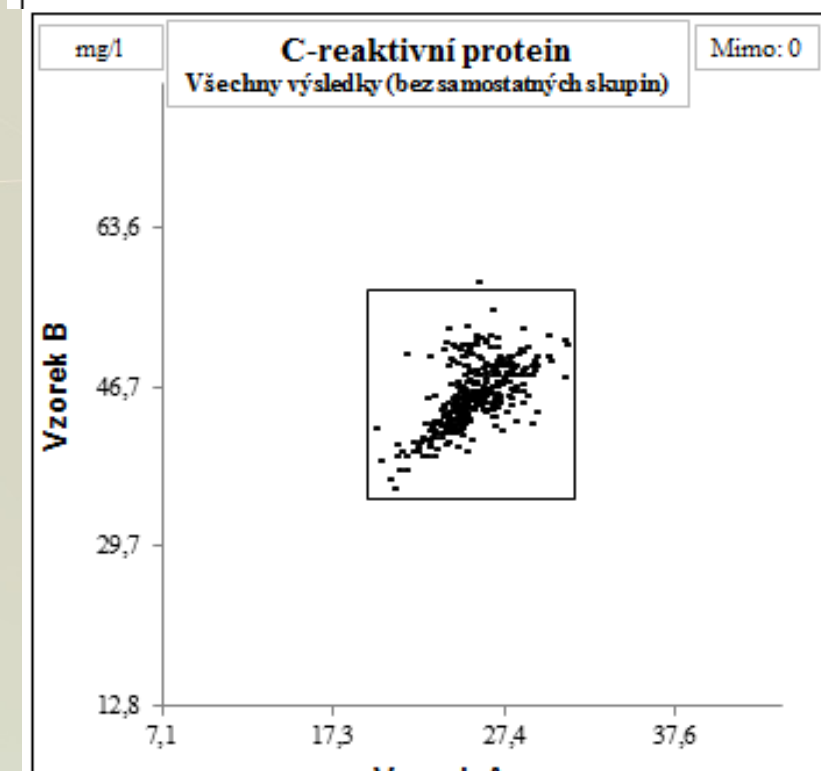
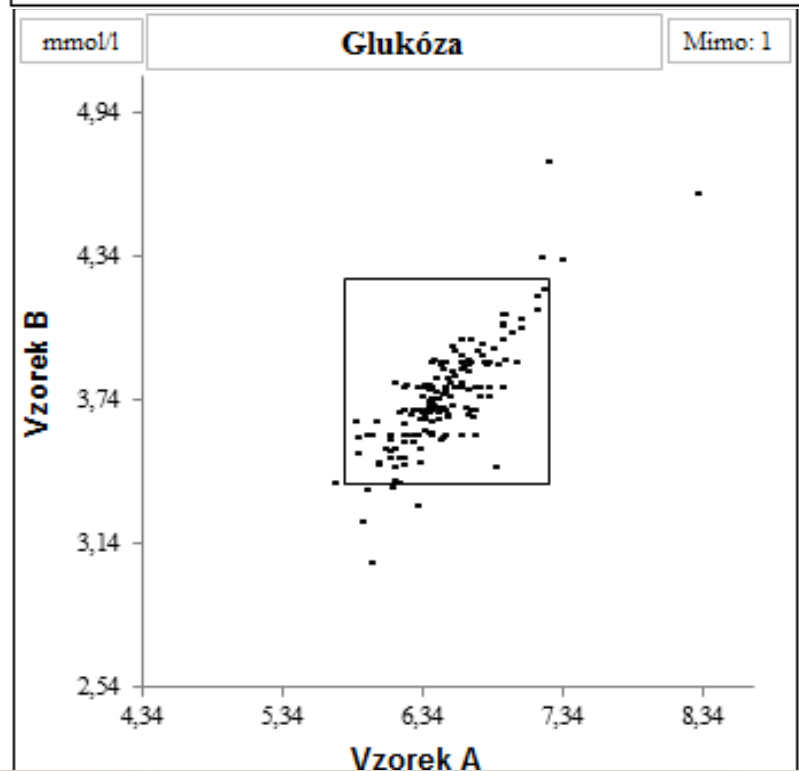
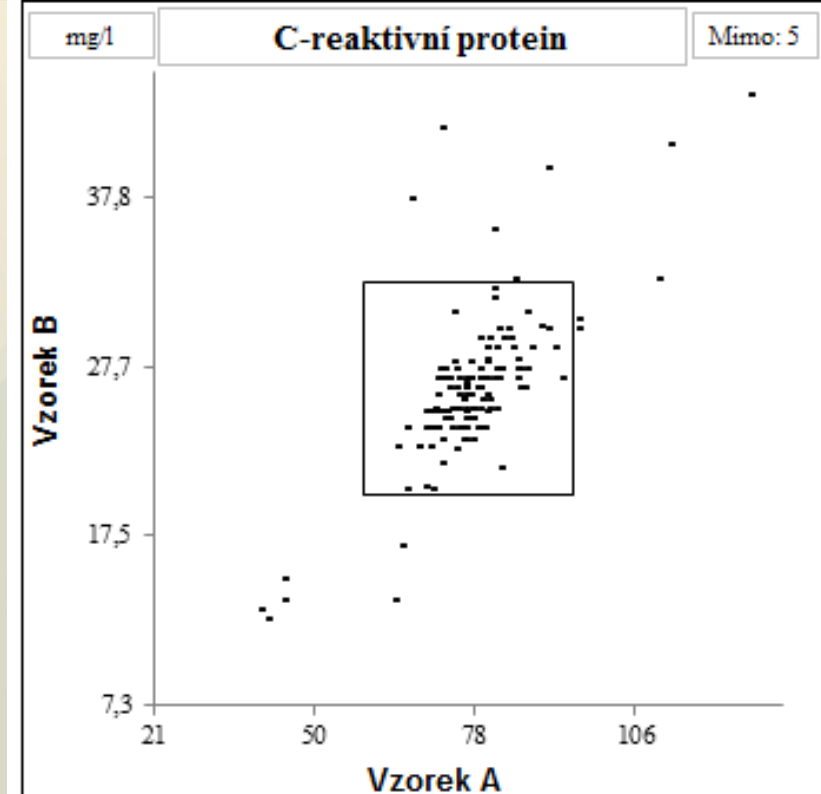
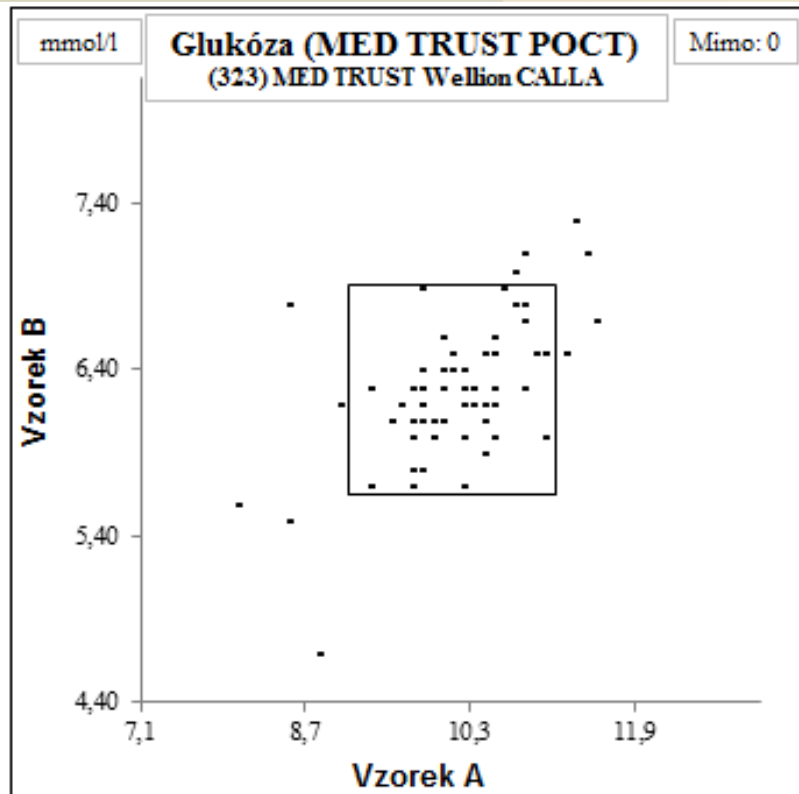


Lékař



# POCT – cesta budoucnosti?





Pre-analytická chyba



Analytická chyba



Post-analytická chyba

Zvyšující se celková chyba

„Trash in = trash out“

# Preanalytická fáze

- Jedná se o období od indikace vyšetření po vlastní analýzu
- Správná preanalytika je nezbytná pro správné výsledky vyšetření (až 46-68% chyb nedodržením pravidel)
- Požadavky musí zadat laboratoř

# Laboratorní vyšetření

název vyšetření	Amoniak P-NH3 NH3	
pracoviště	OKB Bohunice / rutinní tel. 3168, statim+pohot. 3057	
materiál		plazma
odezva - RUTINA - STATIM	denně 60-120 minut	
odb. nádoba RUTINA	Sarstedt	Multivette: EDTA K 600ul - červená
odb. nádoba STATIM	Sarstedt	Multivette: EDTA K 600ul - červená
pokyny k odběru	ihned uzavřít, promíchat, transport v ledové tříšti! plazmu je nutno separovat do 30min. po odběru!	
stabilita před přijetím	čas teplota	30min 18 - 25 °C
stabilita v laboratoři	čas teplota	3h 2 - 8 °C
jednotka	umol/l	( molární koncentrace )
přepoččet jednotek	ug/dl x 0,587 = umol/l	
analytická nejistota měření	8,6%	
metoda	fotometrie, enzymaticky	
SOP - číslo - název	37421159 Stanovení amoniaku (analyzátor Cobas- Roche)	
klíč NČLP	10849	
vykazování pro pojišťovnu RUTINA STATIM	výkon 81341 81119	body 81 87



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

Generální partneři:



SIEMENS

Partneři:



### 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.



## Doporučení výboru ČSKB

- [Doporučení ČSKB: Používání kardiálních troponinů při podezření na akutní koronární syndrom \(2015\)](#)
- [Doporučení k výpočtu nejistot kvantitativních výsledků měření v klinických laboratořích \(2014\)](#)
- [Doporučení o laboratorním screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství \(2014\)](#)
- [Diabetes mellitus - laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů \(2014\)](#)
- [Doporučení: Systém externího hodnocení kvality \(EHK\) \(2014\)](#)
- [Doporučení k použití, výběru a kontrole glukometrů \(2014\)](#)
- [Doporučení k diagnostice chronického onemocnění ledvin \(2014\)](#)
- [Doporučení k využití nádorových markerů v klinické praxi \(2013\)](#)
- [Doporučení pro diagnostiku a léčbu onemocnění štítné žlázy a těhotenství a pro ženy s poruchou fertility \(2012\)](#)
- [Stručné shrnutí výsledků srovnávací studie čtyř systémů POCT k měření HbA1c \(2011\)](#)
- [Pokyny pro odběr moče na toxikologické vyšetření \(2011\)](#)
- [Správné zavádění a používání prostředků POCT \(2011\)](#)
- [Doporučení k převzetí biologického materiálu klinickou laboratoří \(2011\)](#)
- [Glykovaný hemoglobin a jeho stanovení v režimu POCT. Minimum potřebných informací \(2011\)](#)
- [Doporučení pro laboratorní diagnostiku funkčních a autoimunních onemocnění štítné žlázy \(2011\)](#)
- [Vyšetřování proteinurie \(2010\)](#)
- [Validace a verifikace metod \(2010\)](#)
- [Sjednocení hodnotících mezí krevních lipidů a lipoproteinů pro dospělé populaci \(2010\)](#)
- [Cílený screening celiakální sprue \(CS\) \(2009\)](#)
- [Markery poškození myokardu \(2007\)](#)
- [Doporučené diagnostické a terapeutické postupy pro všeobecné praktické lékaře: Biochemické metody \(2007\)](#)
- [Doporučení pro diagnostiku a léčbu dyslipidemií v dospělosti, vypracované výborem České společnosti pro aterosklerózu \(2007\)](#)
- [Vnitřní kontrola kvality \(2007\)](#)
- [Validace a verifikace metod – extrahumánní genom \(2006\)](#)
- [Prevence kardiovaskulárních onemocnění v dospělém věku \(2005\)](#)
- [Odhad nejistot výsledku měření \(2005\)](#)
- [Vyšetřování mozkomíšního moku \(2005\)](#)

# Preanalytická fáze

- **Biologická variabilita** některých parametrů může vyžadovat dodržení některých faktorů
- načasování odběru / vysazení interferujících léků / řízenou dietu / vyloučení fyzické zátěže, kouření, alkoholu, dalšího stresu / poloha pacienta při odběru / odběrová nádobka
- **Neovlivnitelné faktory**
- věk, pohlaví, rasa, gravidita



# Preanalytická fáze

- **Intraindividuální variabilita**
- Zahrnuje rozpětí hodnot parametru u jedince v čase
- **Interindividuální variabilita**
- Zahrnuje rozpětí hodnot parametru v dané populaci za definovaných podmínek

# Analýza

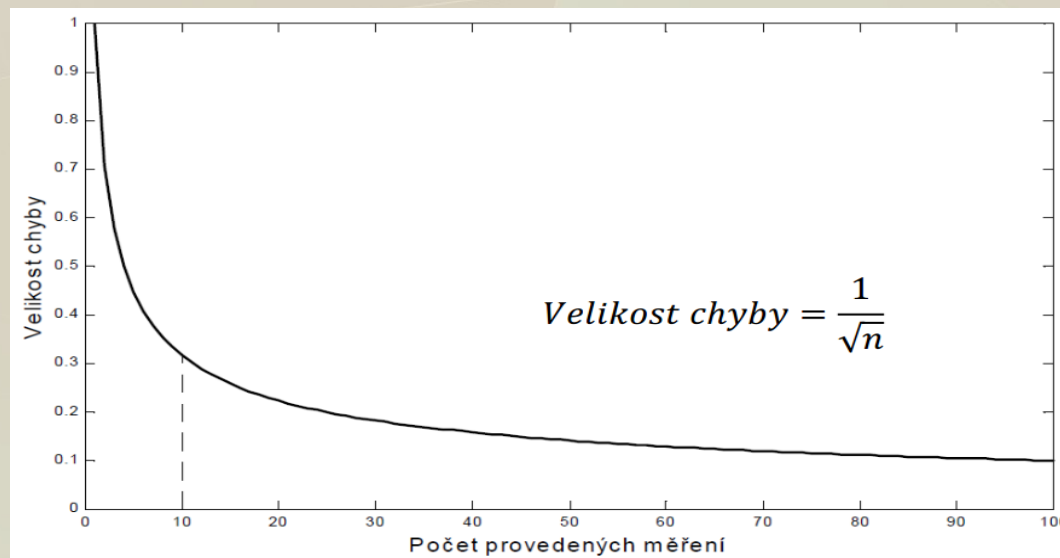
- Analýzou rozumíme proces, při nichž jsou získávány hodnoty měřené veličiny biologického materiálu
- Analyzovaný parametr nazýváme „analyt“
- Získávání výsledné hodnoty označujeme jako „stanovení“

# Chyby měření

- Chybou měření rozumíme rozdíl mezi referenční a naměřenou hodnotou
- (nezaměňovat s výrobní chybou nebo omylem)
- Můžeme je rozdělit na **chyby náhodné, systematické a hrubé**

# Chyby měření - náhodné chyby

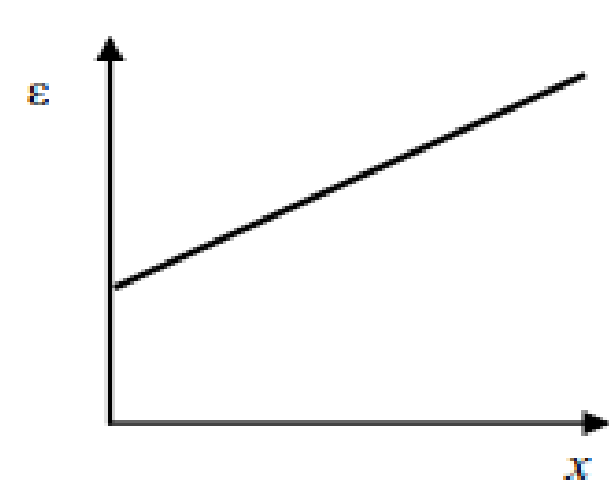
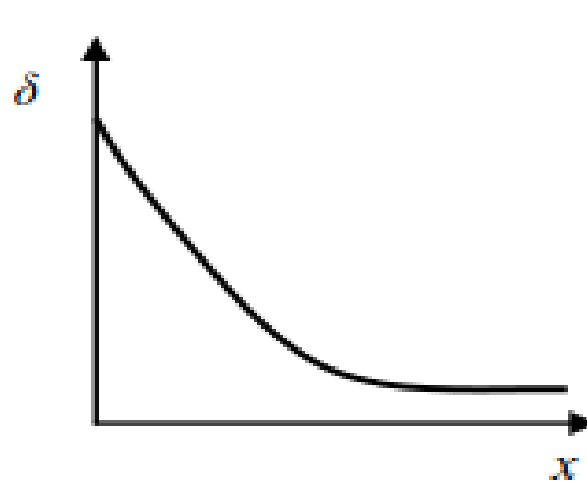
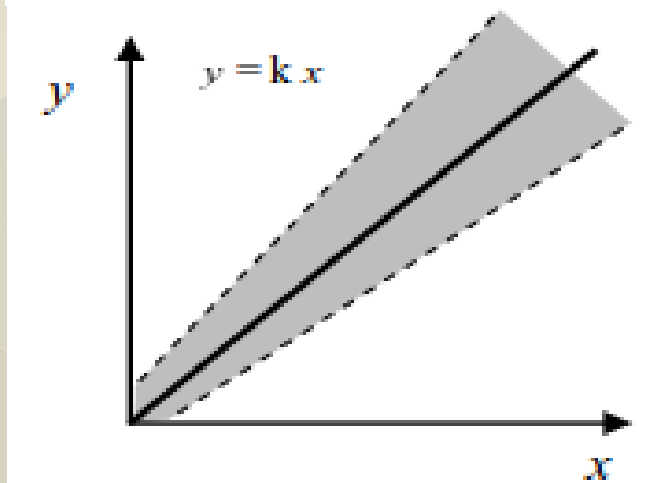
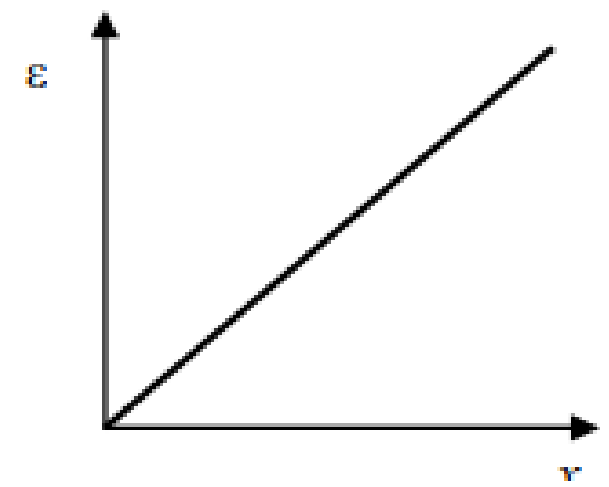
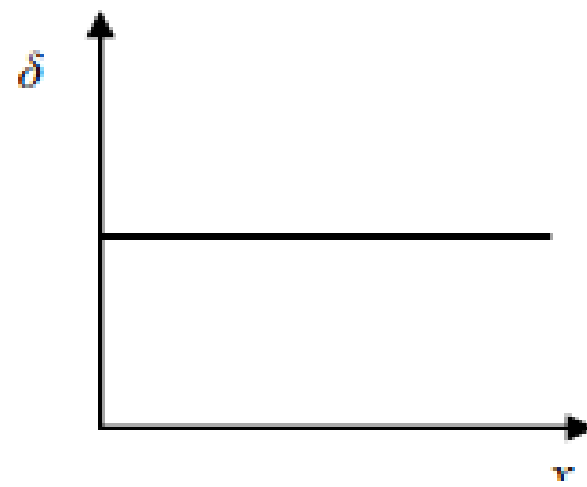
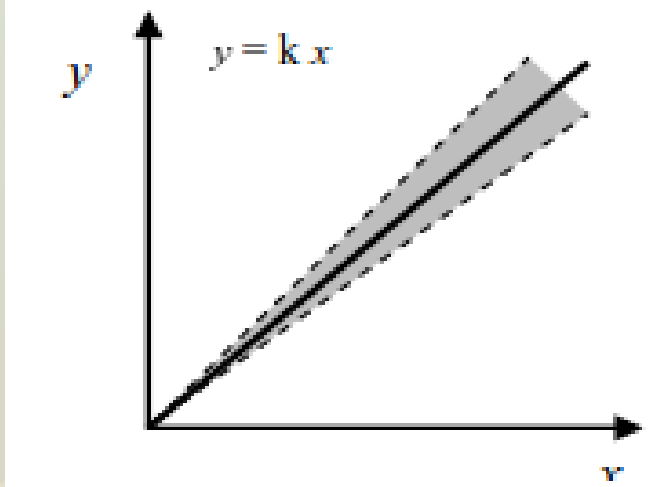
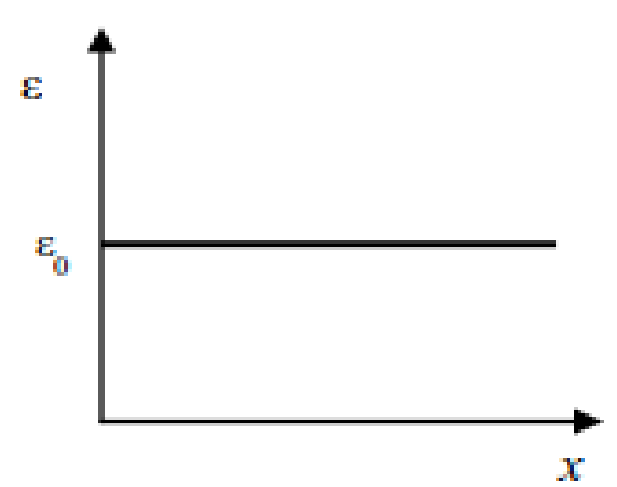
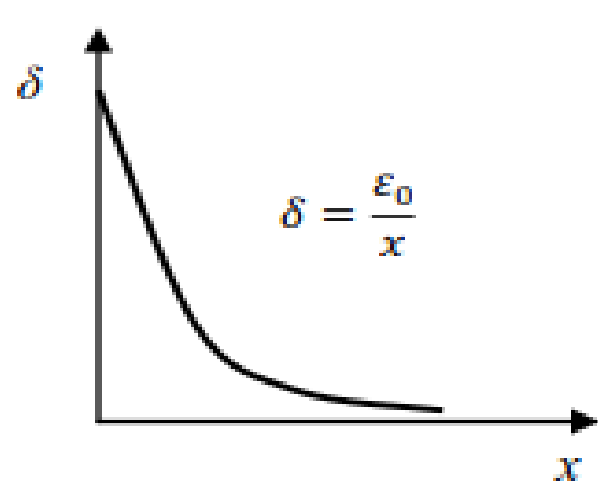
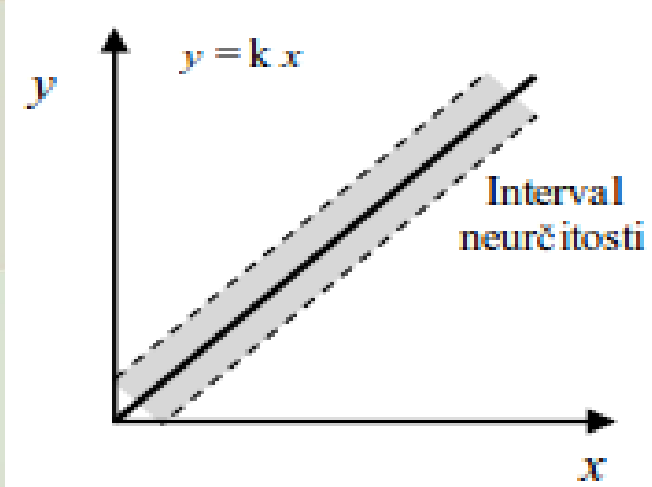
- Složka chyby měření, která se v opakovaných měřeních mění nepředvídatelným způsobem
- Má normální (Gaussovo) rozdělení s nulovou střední hodnotou a rozptylem
- Její vliv na nejistotu výsledku lze zmenšit zvýšením počtu stanovení



# Chyby měření

## 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

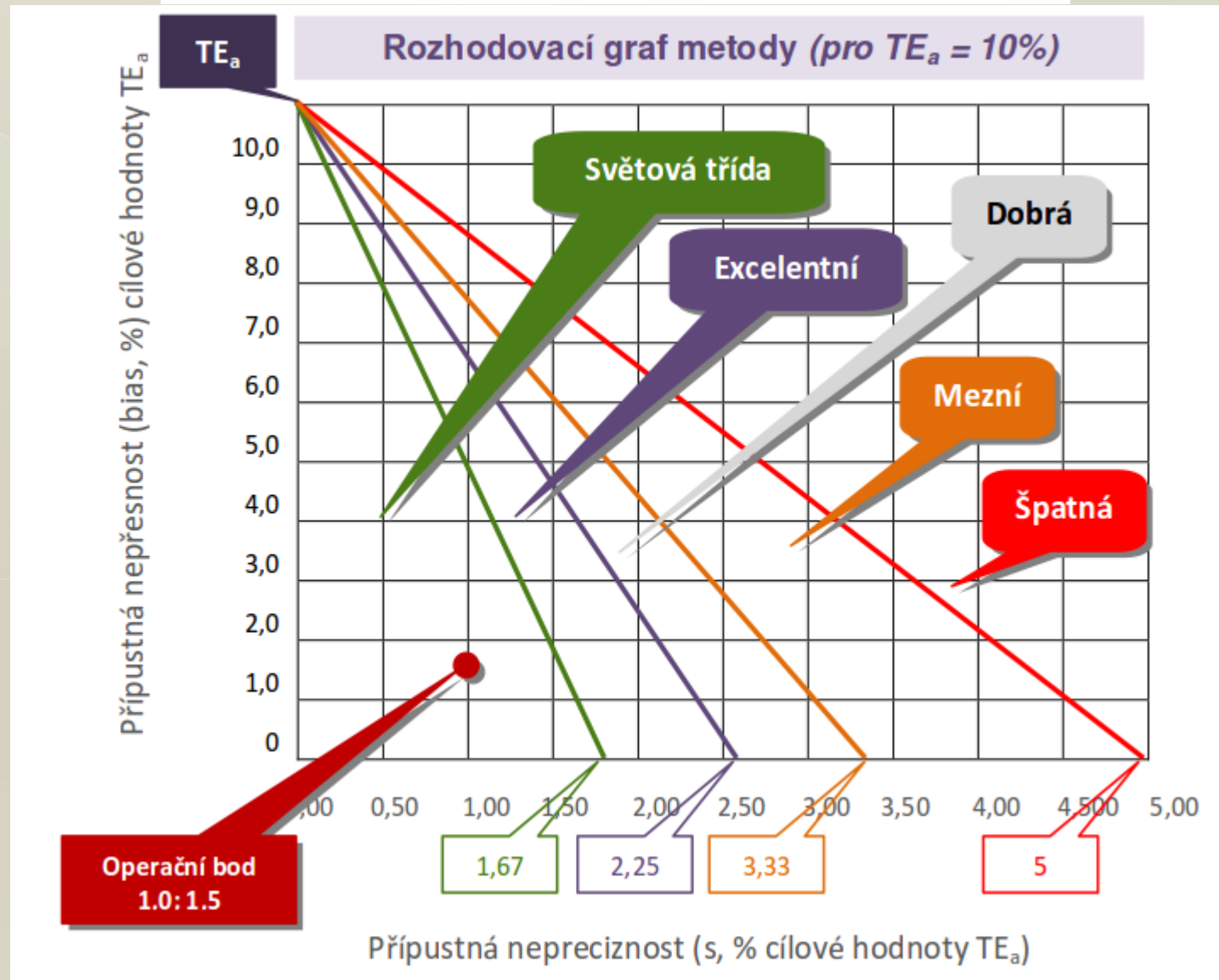
## hrubé chyby

- Chyby měření způsobené nepozorností, nesprávným postupem, špatnou volbou metody, 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

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

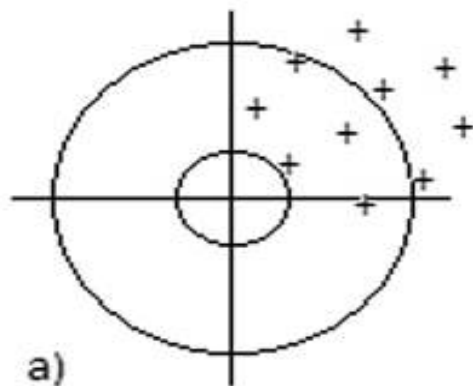
- Jaká je maximální povolená chyba?



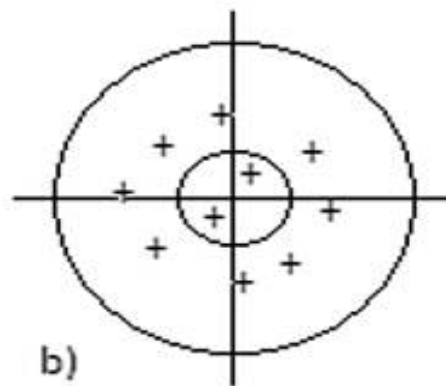


# Parametry analytických metod

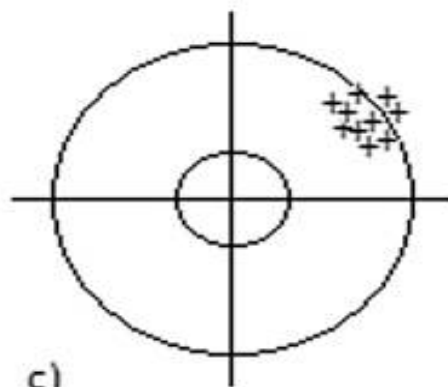
- Termíny
  - **Preciznost** (Precision)
    - těsnost souhlasu (shody) mezi nezávislými výsledky zkoušky získanými za předem specifikovaných podmínek
  - **Pravdivost** (Trueness)
    - Těsnost shody mezi průměrnou hodnotou získanou z velké série výsledků měření a správnou hodnotou měřené veličiny
  - **Přesnost** (Accuracy)
    - Těsnost shody mezi naměřenou hodnotou veličiny a pravou hodnotou měřené veličiny (kombinuje preciznost a pravdivost měření - vliv náhodných a systematických chyb)



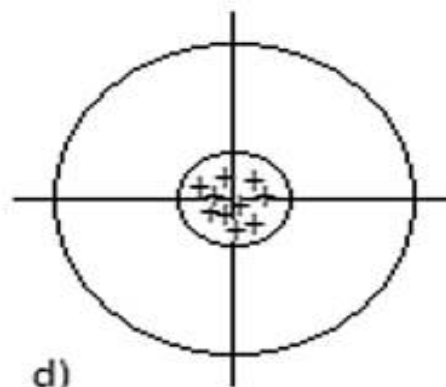
a)



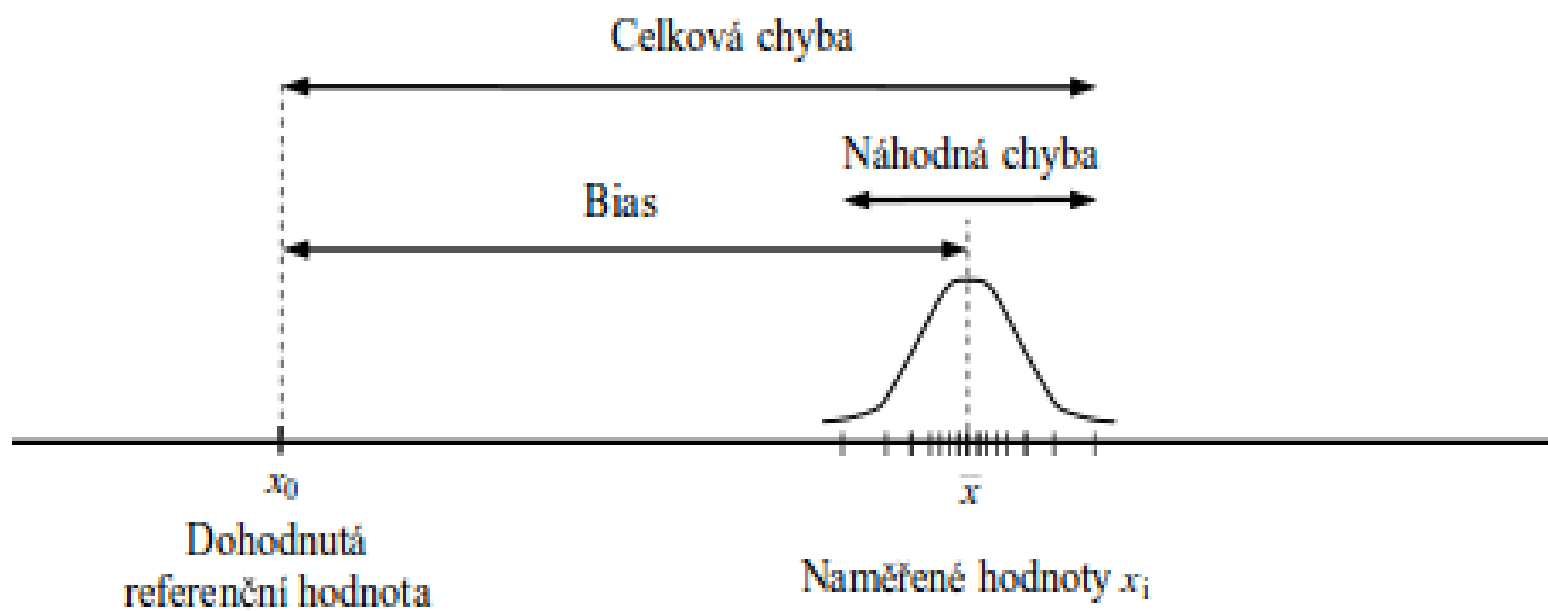
b)



c)



d)



# Parametry analytických metod

- **Opakovatelnost**

- Podmínka opakovatelnosti měření zahrnuje stejný postup měření, stejný obslužný personál, stejný měřicí systém, stejné pracovní podmínky a stejné místo, a opakování měření na stejném nebo podobných objektech v krátkém časovém úseku.

- **Mezilehlá preciznost**

- Posouzení v delším časovém úseku stejným personálem na stejné přístroji (ale změna reagensů apod.)

# Parametry analytických metod

- **Reprodukovatelnost**
- Posouzení na různých pracovištích na různých přístrojích rozdílným personálem
- **Robustnost**
- Schopnost metody poskytovat přijatelné výsledky měření i v případě, že dojde k malým odchylkám od měřicího postupu či složení vzorku. Udává její spolehlivost při běžném používání.

# 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

# 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 )

# 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

# 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



# Referenční materiály a kalibrace

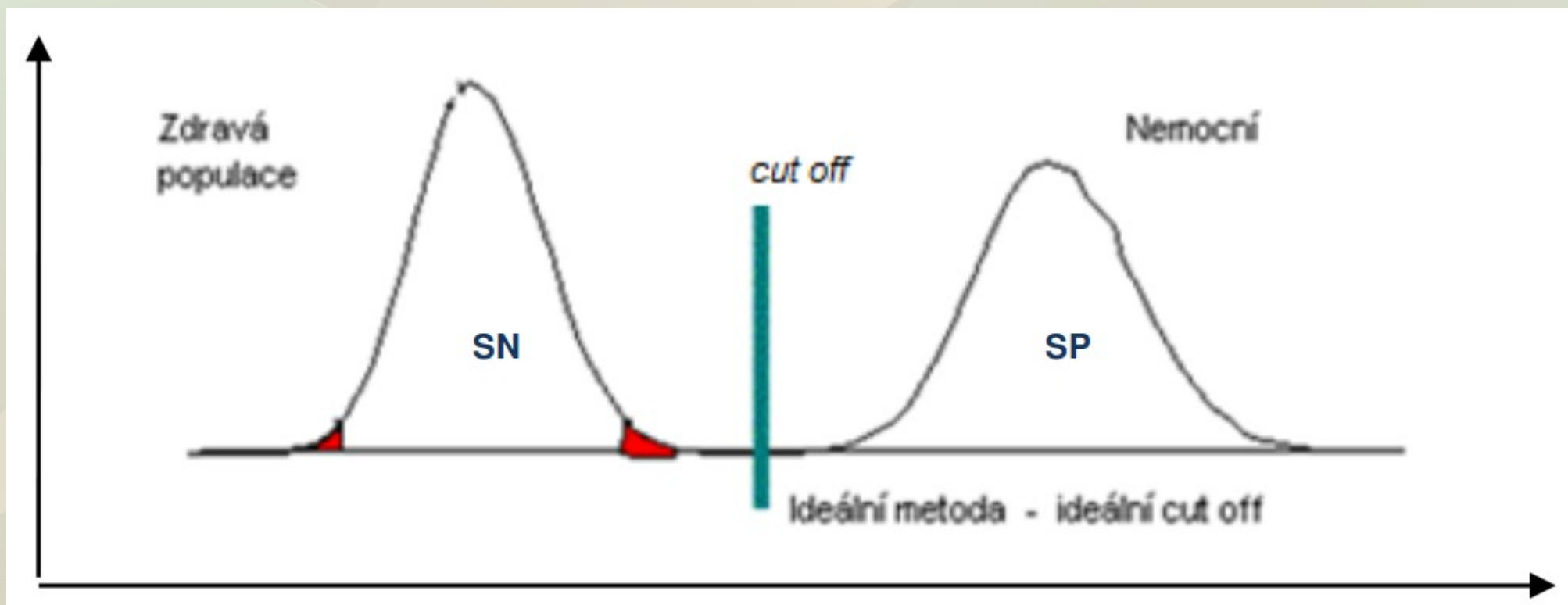
- Porovnání výsledků měření s referenčními materiály je zajištěna jejich pravdivost
- Referenční materiály jsou odvozeny řadou kalibrací k referenčním materiálům vyšší úrovně (čistoty, přesnější metodou stanovení)

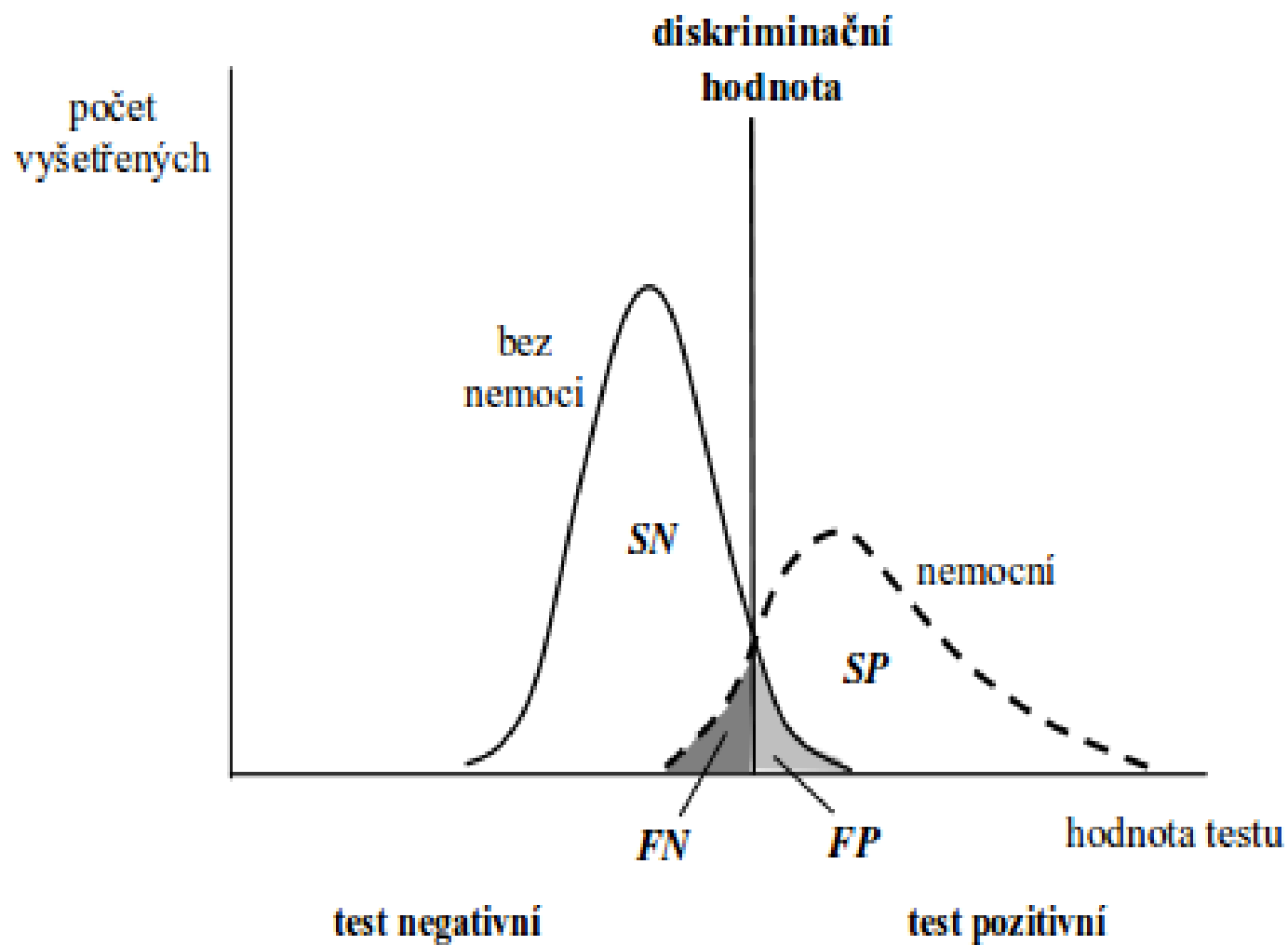
# Referenční hodnoty



# Referenční hodnoty pacientů

- Lze je získat analýzou zdravé populace pacientů, musí být dobře definovaní
  - Statistické rozlišení rozdílů mezi skupinami – muži, ženy, dospělí, děti....
- Z literatury, data výrobce metody, konsenzus odborníků





*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

- Specifita metody
- Schopnost měřicího postupu detekovat pouze cílený analyt

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

- Citlivost metody (senzitivita)
- Schopnost měřicího postupu zachytit i malé množství analytu

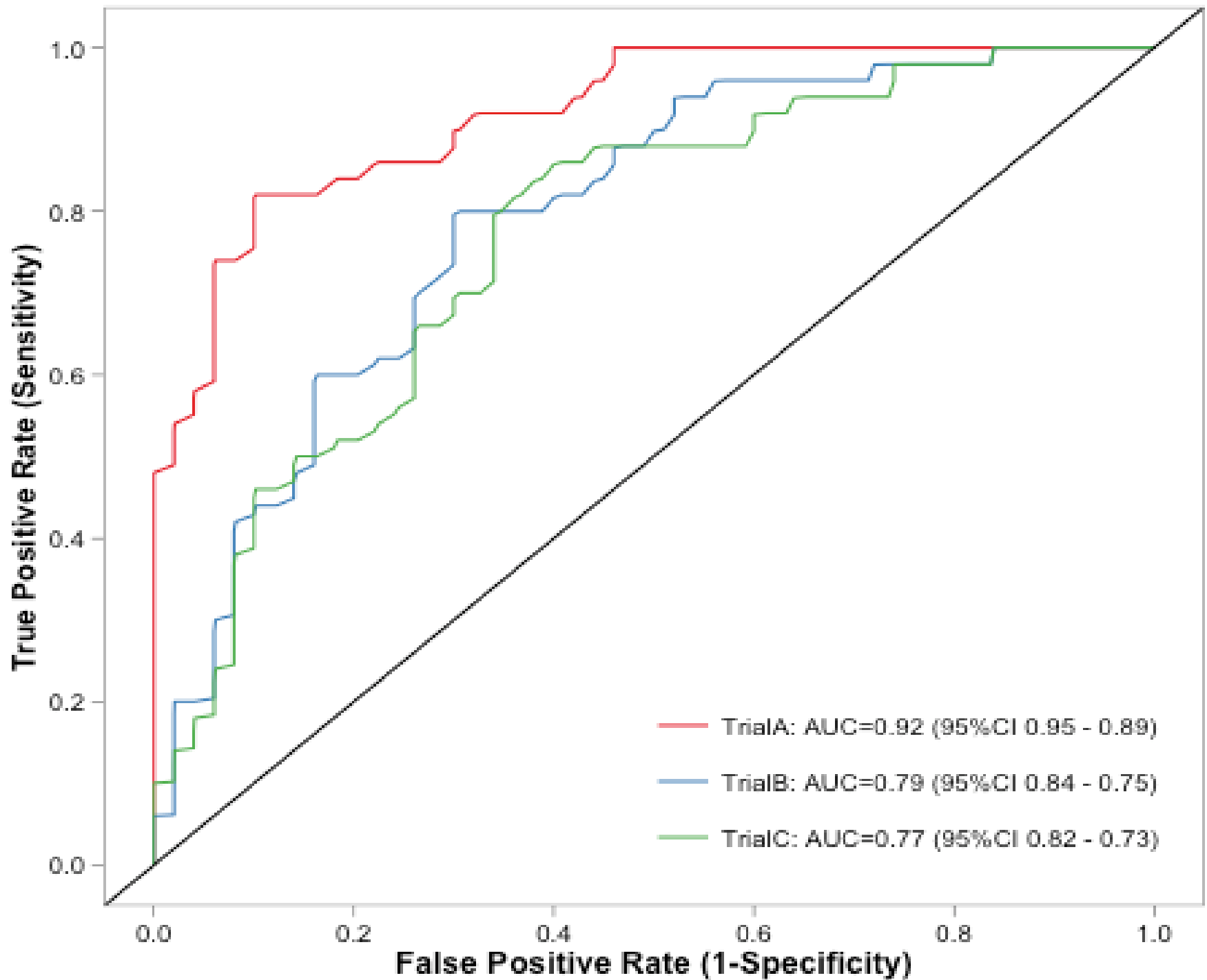
$$\text{Diagnostická senzitivita} = \frac{\text{nemocní s pozitivním testem}}{\text{všichni testovaní nemocní}} = \frac{SP}{SP + FN}$$

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>

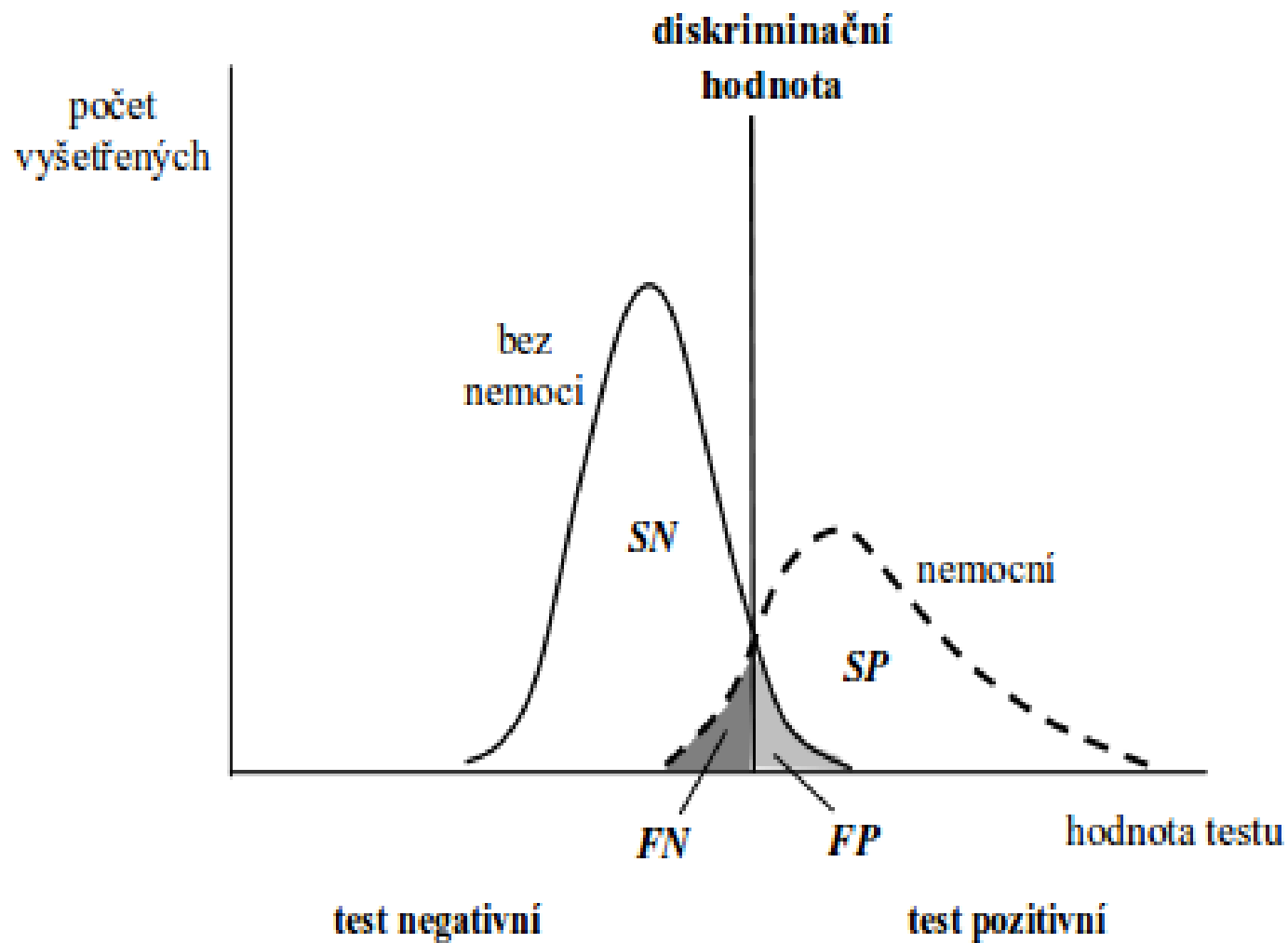
# ROC křivka

## Receiver operating characteristic plot

- Grafické vyhodnocení diskriminačních schopností funkcí nebo veličin (např. používaných diagnostických testů). Sestrojuje se vynesemím hodnot klinické citlivosti (osa y) proti hodnotám klinické nespecifičnosti (osa x) pro všechny rozhodovací úrovně. ROC křivky poskytují hodnoty klinické citlivosti a specifičnosti, pozitivních a negativních prediktivních hodnot a klinické věrohodnosti (Likelihood ratio - LR). Hodnota plochy pod křivkou (AUC) kvantifikuje diagnostickou správnost zkoušky. ROC analýza dovoluje optimalizovat hodnoty rozhodovacích úrovní pro zvolený účel (dosažení vyšší citlivosti nebo specifičnosti nebo optimální kombinace obou).







*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)

# 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

# Prediktivní hodnoty

- Prevalence
- Míra zastoupení nemoci v populaci

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

- Poměr šancí (odds ratio)
- Udává poměr šancí pozitivního a negativního testu

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

## **Interpretace laboratorních výsledků vždy v souvislosti s klinickým stavem**

**Při podezření na nesprávný výsledek kontaktovat laboratoř, vyšetření opakovat ze stejného odběru nebo provést nový odběr**

**Dodržovat preanalytiku – „Trash in -> Trash out“**

**Zavádět a kontrolovat POCT vždy ve spolupráci s laboratoří**

**Nezapomínat na přesahy správně pozitivních/falešně pozitivních a správně negativních/falešně negativních výsledků testů – CutOff hodnoty nejsou samospásné (prediktivní hodnoty)**

**Děkuji za pozornost**