# 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 Immulite (Siemens) 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:*

**Immulite 2000 (Siemens)**

**Cobas 8000 - modul e 801 (Roche Diagnostic)**

*Úkoly:*

1. **Na přístroji Immulite 2000:**
	1. Proveďte analýzu ß2 mikroglobulinu u několika rutinních vzorků a okomentujte výsledky z hlediska klinického významu. Nejprve však zjistěte a zapište, zda je interní kontrola kvality (IKK) měřená daný den ráno v požadovaném rozmezí a na palubě přístroje je dost reagencií.

Pacient č. Výsledek Referenční meze Komentář

 1

 2

 3

1. V LIS vyhledejte a okomentujte další čtyři pacientky s IgE (2) a C-peptid (2).

Pacient č. Výsledek Referenční meze Komentář

 1

 2

 3

 4

1. Uveďte princip přístroje – v krátkosti.
2. V LIS vyhledejte a okomentujte pacienta s pozitivními a negativními hodnotami specifického IgE – stanovení alergenů. Prostudujte si tabulku rozdělení alergenů do tříd dle hodnoty specifického IgE - viz. komentář v LIS.

Pacient č. Výsledek Referenční meze Třída alergenu

 1

1. **Na přístroji cobas 8000 modul e801:**
2. 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.
3. Doplňte reagencii na modul e801.

c) Uveďte princip modulu e801 – v krátkosti.

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

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

f) 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

 **Z přiložených dat zpracujte ROC křivku pro ß2 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 specifičtější.

**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 sloupečku pod název B2MG vložte data zdravých a pod to data nemocných

- Do druhého sloupečku 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 specificitu a senzitivitu pro nejvyšší Youdenův index. Dále porovnejte kriterium s rozhodovací mezí (cut off hodnotou) používanou v laboratoři - pro věk 60-110 roků je to3,00 mg/l:

***Závěr:***

......................................................................................................................................................

…………………………………………………………………………………………………..