

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
Katedra biologických a lékařských věd

Studijní program: Zdravotnická bioanalytika

**Posudek oponenta bakalářské práce**

Oponent/ka: **RNDr. Petr Sadílek, Ph.D.**

Rok obhajoby: 2014

Autor/ka práce: **Soňa Rybničková**

Název práce:

**MOŽNOSTI STANOVENÍ PROTILÁTEK TYPU LUPUS ANTIKOAGULANS  
V HEMATOLOGICKÉ LABORATOŘI IKEM PRAHA**

---

Rozsah práce: počet stran: 70, počet grafů: 0, počet obrázků: 3,

počet tabulek: 5, počet citací: 22

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: splněn neúplně
- b) Jazyková a grafická úroveň: dobrá
- c) Zpracování teoretické části: dobré
- d) Popis metod: dobrý
- e) Prezentace výsledků: dobrá
- f) Diskuse, závěry: dobré
- g) Teoretický či praktický přínos práce: velmi dobrý

Případné poznámky k hodnocení: Autorka se ve své práci zabývá možnostmi stanovení protilátek typu lupus antikoagulans v hematologické laboratoři IKEM Praha. V teoretické části popisuje celý systém hemostázy včetně některých přirozených inhibitorů, dále popisuje antifosfolipidové protilátky, mechanismy jejich působení a možnosti diagnostiky, zejména protilátek typu lupus antikoagulans. V praktické části zdůrazňuje výrazný vliv preanalytické fáze na výsledek vyšetření - na 20 pacientech srovnává počty krevních destiček v plazmě získané centrifugací pomocí centrifugy StatSpin, standardní centrifugací a dvojitou centrifugací. Samozřejmě se zde potvrzuje dávno známý fakt, že bez dvojí centrifugace jsou počty destiček v plazmě vyšší, což může vést v laboratorní diagnostice protilátek typu lupus antikoagulans k falešné negativitě naměřených výsledků. Dále zde popisuje přístroje a metody používané při laboratorní diagnostice protilátek typu lupus antikoagulans. V experimentální části stručně charakterizuje vyšetřovaný soubor pacientů, porovnává vyhodnocení směsných testů pomocí Rösnerova indexu a poměru časů směsi pacienta s normální plazmou ku normální plazmě - výpočtem specifity a senzitivity. Dále porovnává výsledky konfirmačních testů na principu aPTT a pro ilustraci uvádí 2 kazuistiky s interferencí antikoagulační léčbou.

Dotazy a připomínky: K práci mám následující připomínky:

1. v práci se objevuje mnoho překlepů, chybí těčky, čárky
2. chybí kapitola Úvod

3. místo označení "lupus antikoagulans" by se mělo správně užívat "protilátky typu lupus antikoagulans"
4. v abstraktu nejsou uvedeny žádné konkrétní výsledky ani závěry
5. v práci se nachází celá řada diskutabilních spojení a nepřesných informací, např. str. 12 protilátky typu LA mohou vést k "prodloužení rutinní reagentie aPTT", str. 13 "krev je oddělená od vnějšího prostředí cévní stěnou", str. 16 protilátky typu LA "prodlužují celkový koagulační čas a protrombinový čas", str. 16 "protilátky brání na kalciových iontech vazbě koagulačních faktorů X a II oběma izotopy", str. 35 "testovací plazma" místo testovaná, ad.
6. velice špatná kvalita obrázku 1
7. odběr vzorku pro laboratorní diagnostiku protilátek typu LA - "do modré zkumavky"
8. v kapitole 5.2 se chybně odkazujete na kap. 6.4 (místo 5.4)
9. v tab. č. 1 není uvedeno, že počet trombocytů v plazmě je v hodnotách  $\times 10^9/l$
10. v tab. č. 2 máte hodnoty poměrů uvedeny někde na 2 desetinná místa a někde jen na 1
11. proč řadíte kapitolu 5.6 Přístroje do kap. 5 Preanalytická fáze?
12. vyhodnocení screeningových testů dRVVT a aPTT-LA bych uvedl jako samostatnou kapitolu 6.1.5, aby to nevypadalo, že se jedná o podkapitolu kapitoly 6.1.4 dRVVT.
13. Plazma firmy Diagnostica Stago pro směsné testy v diagnostice protilátek typu LA se nejmenuje Pool plazma, ale Pool Norm.
14. U tabulek č. 3 a 4 není uveden zdroj (případně vlastní zpracování)
15. rivaroxaban není přímý inhibitor faktoru X, jak uvádíte, ale pouze jeho aktivované formy.
16. chyba v zápise použité literatury + neuvedení jednoho ze zdrojů v seznamu literatury (pouze v textu)
17. dvakrát chybně uvádíte název poloautomatického koagulometru jako Star-4
18. v kapitole Přílohy máte uvedených několik tabulek (na 26 stran) - pro přehlednost bych je očísloval jako jednotlivé přílohy (je problém se orientovat, když v textu uvedete "viz kapitola Přílohy")
19. v tabulkách v přílohách uvádíte zkratky R-RI a A-RI, které nejsou nikde vysvětleny
20. v tabulce "Porovnání konfirmačních testů" máte ve sloupečku aPTT (NR) zaokrouhleny hodnoty poměrů pouze na 1 desetinné místo (kromě 40 posledních pacientů), což je v tomto případě zcela zásadní problém, neboť hranici positivity máte stanovenou na hodnotu 1,20, tudíž zde vůbec netuším, zda se pod zaokrouhlenou hodnotou 1,2 nachází výsledek v rozmezí 1,15 - 1,19 - tedy negativní, či 1,20 - 1,24 - tedy pozitivní! Jednou máte jako poměr uvedenou hodnotu -69,00 ! Navíc, pokud dobře počítám, mi nesesdí počet pozitivních výsledků konfirmačních testů s hexagonálními fosfolipidy, který uvádíte v kapitole 7.2 (84 pacientů). Počty pozitivních výsledků aPTT (NR) nelze vzhledem k nesmyslnému zaokrouhlování ověřit! Dále bych v tabulce sjednotil zkratky mm a málo mat. a zápis interferujících léčiv vždy s počátečním velkým písmenem. Jednou je místo výsledku testu s hexagonálními fosfolipidy uvedeno "viz Komentář".
21. nemohu se dobrat stejných výsledků jaké uvádíte v kapitole 7.2 Výsledky porovnání konfirmačních testů na principu aPTT. Celá kapitola je popsána velmi nepřehledně. Nesesdí mi počty pozitivních výsledků testu s hexagonálními fosfolipidy ani celkový počet pozitivních výsledků aPTT (NR) po sečtení dílčích pozitivních výsledků aPTT (NR) v jednotlivých skupinách. Vlastně mi nesesdí ani počet falešně negativních aPTT (NR), ale bohužel kvůli zaokrouhlování (viz bod výše) nemohu výsledky nijak ověřit.

K práci mám následující otázky:

1. Znáte, kromě protilátek typu lupus antikoagulans, nějaké další získané inhibitory hemostázy?
2. Jakým principem ovlivní léčba kumarinovými preparáty výsledek dRVVT?
3. Proč nemohou být dobrovolní dárce krve vybráni do referenčního poolu jak uvádíte na straně 34?
4. Nepřemýšleli jste o zavedení vyšetření protrombinového testu a anti-Xa aktivity hned po zjištění prodloužených screeningových testů? A případně potvrzení antikoagulační léčby by se ve vyšetřování protilátek typu LA dále nepokračovalo a vyšlo by to levněji, než když léčbu vypátráte až po vyšetření všech konfirmačních testů.

**Celkové hodnocení, práce je: dobrá, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci králové dne 28. 5. 2014

.....  
podpis oponentky / oponenta