



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Studies

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Zdravotně sociální fakulta  
Katedra laboratorních metod a informačních systémů

Bakalářská práce

# Diagnostika hyperkoagulačních stavů pomocí měření koncentrace D-dimeru

Vypracoval: Romana Stieblerová  
Vedoucí práce: doc. RNDr. Miroslav Šíp, DrSc

České Budějovice 2015

## ABSTRAKT

Trombofilií lze obecně nazvat stav, kdy je v cévním systému – arteriálním, žilním nebo v mikrocirkulaci zvýšena dispozice k tvorbě trombů, ke které však ještě nedošlo. Předchází tedy vlastnímu procesu trombotizace. Trombofilie se označuje jako hyperkoagulační stav. Dnes se pojem trombofilie používá i pro označení dědičných nebo získaných protrombotických stavů v arteriálním systému nebo v mikrocirkulaci.

Pokroky dosažené v trombolytické a antikoagulační léčbě i intenzivní klinický výzkum v oblasti patogeneze se navzájem potencují a umožňují radikální pokrok v moderním chápání patofyziologických pochodů v klinické diagnostice a především v zavedení velmi účinných léčebných postupů. Výsledky rozsáhlých multicentrálních studií prokazují v řadě případů, že přesná fibrinolytická a koagulační vyšetření a léčba zlepšuje dlouhodobé přežívání vybraných skupin nemocných s cévními trombotickými projevy.

Rešeršní část práce předkládá souhrn posledních poznatků z patofyziologie i současných možností laboratorního hodnocení a jeho interpretaci, především pak je zaměřena na klinické projevy i diagnostiku plicní embolie a trombózy v cévním řečišti. Inspirací k porovnávání naměřených výsledků této práce byly použity studie vydané v odborných časopisech *Haematologica-The Hematology Journal* 2012 a *Jurnal Thrombo Hemost* 2012. Je zde také vyjádřena důležitost správných preanalytických podmínek odběru a transportu krevních vzorků, určených ke koagulačnímu a fibrinolytickému vyšetření.

V praktické části práce jsou z laboratorních vyšetření určených k potvrzení diagnózy nebo v rámci preventivního vyšetření měřeny koncentrace D-dimerů v plazmě pacientů rozdělených do specifických souborů. D-dimery jsou specifické štěpné produkty fibrinu a jejich přítomnost v plazmě svědčí o aktivaci krevního srážení a také fibrinolýzy. Vyšetření koncentrace D-dimerů byly prováděny na automatickém koagulačním analyzátoru ACL Elite Pro. Pro stanovení D-dimerů využívá analyzátor imunologickou metodu, která je založena na reakci protilátky s antigenem. Analyzátor ACL Elite PRO používá k detekci krevních sraženin nefelometrii a měří intenzitu světla rozptýleného ve vzorku v úhlu 90°.

Výsledky sonografického vyšetření byly získány z uložených dat nemocničního informačního systému FONS Akord STAPRO Nemocnice Jindřichův Hradec a.s. Výsledky naměřených hodnot D-dimerů a sonografického vyšetření jsou zapsány do několika datových souborů.

V práci je provedeno ověření hypotéz předpokládající rozdílnost hodnot koncentrací D-dimerů u pacientů zařazených do souboru preventivního vyšetření a souboru pacientů s diagnózou onemocnění vyvolané trombofilií.

Hypotéza o pozitivitě testu D-dimeru při diagnostice žilní trombózy byla také potvrzena, neboť D-dimer jako marker trombofilních stavů vyjadřuje aktuální aktivaci systému in vivo a jeho zvýšená koncentrace potvrzovala žilní trombózu spolu s pozitivními výsledky ultrasonografického vyšetření.

Nejzajímavějším a zároveň nejvýznamnějším výsledkem bakalářské práce bylo ověření hypotézy týkající se použití proměnné hodnoty cut-off D-dimeru u pacientů ve věku nad 50 let se suspektní diagnózou hluboké žilní trombózy a plicní embolie. Významnou důležitost používání proměnné hodnoty cut-off uveřejnily články „*Použití proměnného cut-off D-dimeru modifikovaného věkem pacienta zvyšuje u starších pacientů možnost bezpečného vyloučení trombózy hlubokých žil*“ v odborném časopisu Haematologica-The Hematology Journal October 2012 a „*Použití proměnného cut-off D-dimeru modifikovaného podle věku pacienta k vyloučení plicní embolie*“ v časopisu J Thrombo Haemost 2012. Využitím zveřejněného matematického vzorce (věk pacienta x 10 mg/l FEU) v člancích byly přepočítány hodnoty cut-off u jednotlivých pacientů a na tomto základě byla diagnóza v této práci potvrzena nebo vyloučena. Vyloučení falešně pozitivní hodnoty D-dimeru významně přispívá k přesnému určení diagnózy a tím ke správné a účinné léčbě.

Po prostudování obou zahraničních studií a získání výsledků této práce shodujících se se závěry výzkumu, využila hematologická laboratoř těchto poznatků ke změně prezentace výsledků D-dimerů jak pro pacienty hematologické ambulance, tak pro ostatní klinická oddělení Nemocnice Jindřichův Hradec a.s. Závěry této práce tak přispěly ke zvýšení úrovně prezentace výsledků D-dimerů hematologické laboratoře.

In common thrombophilia is the state of the vessel system in arterial, venous or microcirculation part when the probability of thrombs-creation is increased, but thrombs are not present yet. It is the pre-state of thrombotization. Thrombophilia is denoted as hypercoagulation status. Thrombophilia also is a common term for hereditary and acquired prothrombotic states in arterial, venous and microcirculation system.

Progress in thrombotic and anticoagulation treatment and high-powered clinical research in pathogenesis together enable the radical progress in modern conception of pathophysiology in clinical diagnostic and introduce usage of very efficient treatments. Results of big multi-central studies show clearly how the precise fibrinolytic and coagulation tests and treatments can help in long-term surviving of patients with thrombosis.

The search part of this study shows a summary of last information in pathophysiology and last potentialities in laboratory tests and interpretations focused on clinical exposure and diagnostic of PE and DVT. Inspiration for this study are results published in JOURNAL OF THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS 10 (7): Penalzoa, A., Roy, P. -M., Kline, J., Verschuren, F., Le Gal, G., Quentin-Georget, S. , Delvau, N. , Thys, F. Performance of age-adjusted D-dimer cut-off to rule out pulmonary embolism. 1291-1296, 2012. doi:10.1111/j.1538-7836.2012.04769.x and HAEMATOLOGICA-THE HEMATOLOGY JOURNAL 97(10) Douma, Renee A.; Tan, Melanie; Schutgens, Roger E. G.; et al. Using an age-dependent D-dimer cut-off value increases the number of older patients in whom deep vein thrombosis can be safely excluded. 1507-1513, 2011, doi:10.3324/haematol.2011.060657. In this part also the need of Good Laboratory Praxis for pre-analytics – extraction and transportation of whole blood samples for coagulation and fibrinolytic tests is highlighted.

The practical part of this study covers either the laboratory results aimed to confirm the diagnosis or the results of D-dimer concentration done for preventive reasons and selected in specific files. D dimer is the specific fissile product of fibrin and the presence of D-dimer in plasma testifies the activation of coagulation and fibrinolysis. D-dimer tests were done on the automatic coagulation analyzer ACT Elite Pro. D-dimer test has been done by immunological method based on reaction between antigen and antibody. Analyzer ACL Elite PRO uses nephelometry for detection of blood clots and reads the intensity of scattered 90° angle light in the sample.

Results of sonography are from data stored in hospital information system FONS Akord STAPRO Hospital Jindřichův Hradec a.s. All data were collected in several data-files.

This study verificates the hypothesis of predicted difference of D-dimers in patients from preventive file and patients in file with thrombophilia diagnosis.

The hypothesis of D-dimer test positivity in venous thrombosis was confirmed as well, D-dimer as a marker of thrombophilia shows an actual activation in-vivo system and increased D-dimer concentration confirmed venous thrombosis DVT together with a positive sonography.

The most interesting and the most important result of this study is the confirmation of the hypothesis of using an age-dependent D-dimer cut-off in patients over 50 of age with suspect DVT or/and PE diagnosis. The importance of using an age-dependent D-dimer cut-off was published in articles in JOURNAL OF THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS 10 (7): Penalzoa, A., Roy, P. -M., Kline, J., Verschuren, F., Le Gal, G., Quentin-Georget, S. , Delvau, N. , Thys, F. Performance of age-adjusted D-dimer cut-off to rule out pulmonary embolism. 1291-1296, 2012. doi:10.1111/j.1538-7836.2012.04769.x and HAEMATOLOGICA-THE HEMATOLOGY JOURNAL 97(10) Douma, Renee A.; Tan, Melanie; Schutgens, Roger E. G.; et al. Using an age-dependent D-dimer cut-off value increases the number of older patients in whom deep vein thrombosis can be safely excluded. 1507-1513, 2012. doi:10.3324/haematol.2011.060657. Thanks to a mathematics formula (age of patient x 10 mg/l FEU) in these articles cut-offs in patients collected in this study were re-calculated and diagnosis were confirmed or excluded. The exclusion of false positive results D-dimer significantly makes for precise diagnosis and good, efficient treatment.

This study corresponds fully with both external studies. Results have been used for modification of D-dimer presentation in hematology laboratory for patients from hematology ambulance and other clinical departments Hospital Jindřichův Hradec a.s. Results of this study have improved the presentation of D-dimer in our hematology laboratory.

# PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledky obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne

.....

Romana Stieblerová

## **PODĚKOVÁNÍ**

Poděkování patří mému vedoucímu bakalářské práce, panu doc. RNDr. Miroslavu Šípovi, DrSc. a zároveň mojí konzultantce paní Mgr. Haně Semerákové za spolupráci při tvorbě této práce a celému oddělení Hematologie a krevní transfúze, Nemocnice J. Hradec, a.s.

# OBSAH

ABSTRAKT .....	1
PROHLÁŠENÍ .....	5
PODĚKOVÁNÍ .....	6
OBSAH .....	7
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK .....	9
ÚVOD .....	10
1 TEORETICKÁ ČÁST .....	12
1.2 Hyperkoagulace .....	12
1.2 Žilní trombóza .....	13
1.2.1 Definice žilní trombózy .....	13
1.2.2 Klinický obraz .....	13
1.2.3 Lokalizace .....	14
1.2.4 Laboratorní vyšetření .....	14
1.2.5 Ultrasonografie .....	15
1.2.6 Příčiny žilní trombózy .....	16
1.2.7 Výskyt .....	16
1.2.8 Vývoj hluboké žilní trombózy a embolizace do plic .....	17
1.3 Plicní embolie .....	17
1.3.1 Diagnostika plicní embolizace .....	17
1.3.2 Příznaky plicní embolie .....	18
1.3.3 Příčiny embolizace .....	18
1.3.4 Rekurence plicní embolie .....	19
1.4 Fibrinolýza .....	19
1.4.1 Funkce fibrinolytického systému .....	20
1.4.2 Fibrinolytické látky .....	21
1.5 D-dimery .....	23
1.5.1 Význam D-dimerů .....	23
1.5.2 Vyšetření D-dimeru .....	23
1.5.3 Výsledky vyšetření D-dimeru .....	24
1.5.4 Diagnostická senzitivita a specificita .....	24
1.6 Zahraniční studie .....	25
1.6.1 Haematologica–The Hematology Journal .....	25
1.6.2 Jurnal Thrombo Hemost 2012 .....	25
1.7 Preanalytická fáze .....	26



1.7.1	Odběr krve.....	26
1.7.2	Příprava pacienta před odběrem.....	26
1.7.3	Pravidla správného odběru krve.....	26
1.7.4	Odběr krve pro koagulační vyšetření.....	27
1.7.5	Označení biologického materiálu.....	27
1.7.6	Základní údaje na požadavkovém listu.....	27
1.7.7	Transport biologického materiálu do laboratoře.....	28
1.7.8	Kontrola vzorku biologického materiálu.....	28
1.7.9	Příprava citrátové plazmy chudé na obsah krevních destiček pro koagulační vyšetření.....	28
2	CÍLE A HYPOTÉZY.....	29
2.1	Cíle práce.....	29
2.2	Hypotézy.....	29
3	MATERIÁL A METODY.....	30
3.1	Vyšetřované soubory vzorků.....	30
3.2	Preanalytická fáze.....	31
3.3	Centrifugace.....	32
3.3	Analýza vzorků.....	33
3.3.1	Koagulační analyzátor.....	33
3.3.2	Postup měření.....	35
3.3.3	Postanalytická fáze.....	36
4	VÝSLEDKY.....	37
4.1	Porovnání hodnot preventivního a suspektního vyšetření D-dimerů.....	37
4.2	Porovnání hodnot D-dimerů s výsledky ultrasonografického vyšetření žil.....	39
4.3	Výpočet hodnoty cut-off v závislosti na věku pacienta.....	40
4.4	Výpočet a ověření hodnoty cut-off používané v hematologické laboratoři.....	42
5	DISKUZE.....	44
6	ZÁVĚR.....	46
7	SEZNAM V PRÁCI POUŽITÝCH ZKRATEK.....	47
8	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	48
9	KLÍČOVÁ SLOVA.....	51
10	PŘÍLOHY.....	52

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

aPTT – aktivovaný parciální tromboplastinový čas

DIC – diseminovaná intravaskulární koagulace

DVT ( Deep Vein Thrombosis) – hluboká žilní trombóza

FDP - fibrinogen a fibrin degradační produkty

FEU – fibrinogen ekvivalentní jednotky

Glu-Lys – kyselina glutamová – lysin

ICOPER (International Cooperative Pulmonary Embolism Registry) - Mezinárodní společnost registru plicní embolie

LIS – laboratorní informační systém

LMWH ( low molecular weight heparin) - nízkomolekulární heparin

OHKT - oddělení hematologie a krevní transfúze

PE – plicní embolie

## ÚVOD

Hyperkoagulační stavy jsou stále velkým zdravotnickým a sociálně – ekonomickým problémem. Jejich včasné diagnostice i léčbě se věnuje velká pozornost. Neustále se zintenzivňuje také jejich lékařský výzkum. V rámci prevence se dnes zaměřuje pozornost na aktivní vyhledávání osob se zvýšeným rizikem žilního tromboembolismu, jak hereditárního, tak získaného (13).

Přestože se v současné době používají nové diagnostické, preventivní a léčebné postupy, přetrvává stále vysoký výskyt jak žilního tromboembolismu, tak i plicní embolie. Velký vliv na přetrvávající vysoký počet výskytů těchto hyperkoagulačních stavů má růst nádorových chorob, které jsou provázeny druhotným tromboembolismem, dále kombinovaná hormonální antikoncepce, která zvyšuje incidenci žilního tromboembolismu třikrát. Hormonální substituce v menopauze zvyšuje incidenci trombózy ještě mnohokrát více. Nezanedbatelný vliv k žilní trombofilii mají také genetické dispozice nebo některá infekční agens (30).

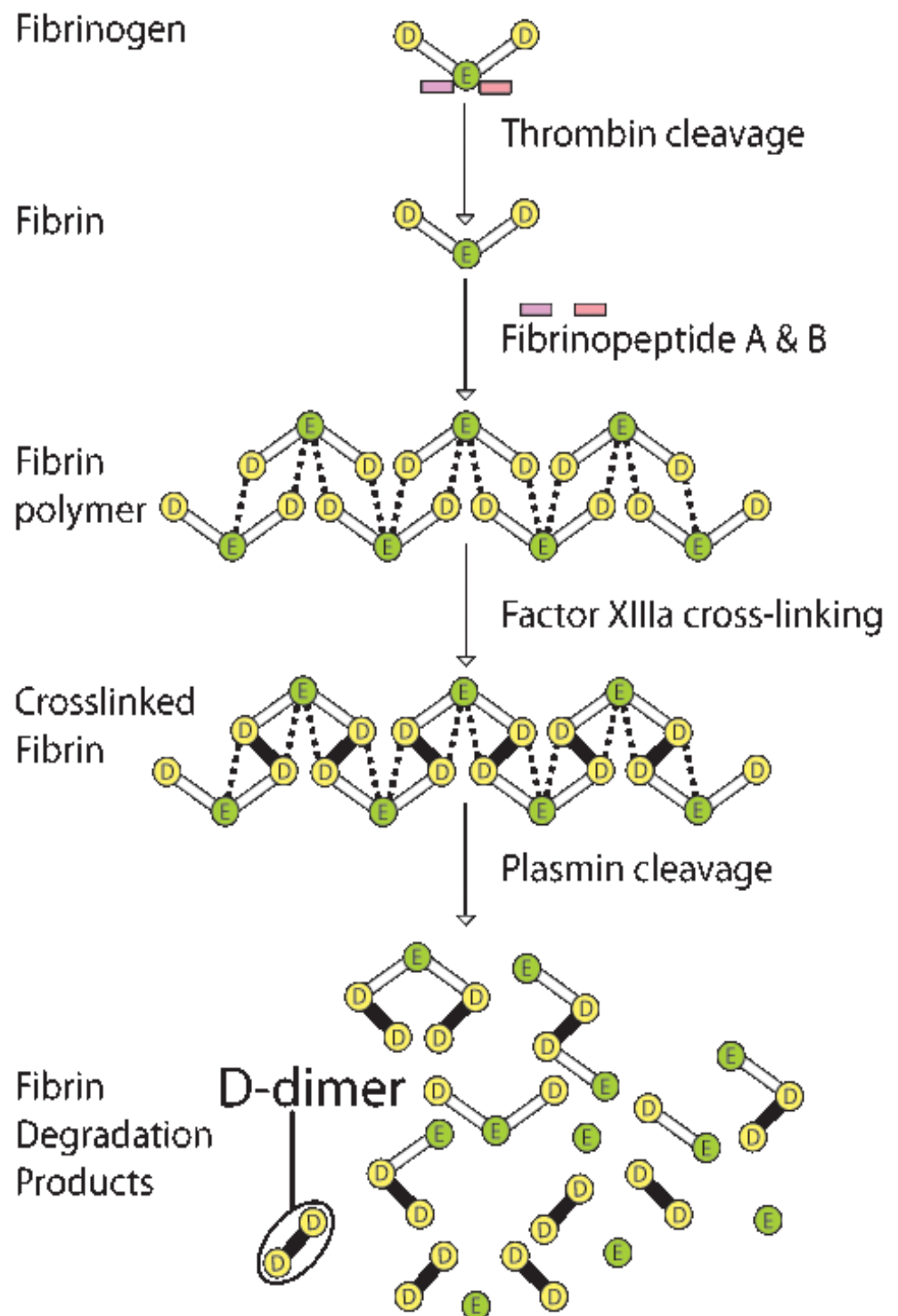
D-dimery jsou specifickým a konečným štěpným produktem fibrinu. Jsou to plazmatické proteiny, nejmenší fragmenty fibrin degradačních produktů Tyto D-dimery se vyznačují různou molekulovou hmotností (různě velké makromolekuly plazminem štěpeného fibrinu, obsahující neoantigeny DD/E (21).

Molekula D-dimeru se skládá ze dvou D-domén vzniklých z přilehlých fibrinových jednotek, spojených kovalentní Glu-Lys vazbou mezi jejich gama řetězci. Tato kovalentní vazba zajišťuje jeho odolnost proti štěpení plazminem a laboratorní průkaz D-dimeru je přímým důkazem štěpení nerozpustného fibrinu (16).

D-dimer slouží jako marker trombofilních stavů. Splňuje totiž všechny požadavky, které by marker takovýchto stavů měl obsahovat. Jeho hladina odráží aktuální aktivaci systému in vivo a není produkován ex vivo (21).

Stanovení kovalentní vazby D-dimerů se provádí specifickými monoklonálními protilátkami v krvi, plazmě, séru nebo moči různými detekčními metodami (aglutinačně, imunoturbidimetricky, fluorescenčně). D-dimer je klíčovým indikátorem čerstvé tromboembolické příhody (17).

# Generation of D-dimer from cross-linked fibrin



**Obr 1:** Vznik D-dimeru

(Zdroj: <https://ahdc.vet.cornell.edu/Sects/Coag/test/Ddimer.cfm>)

# 1 TEORETICKÁ ČÁST

## 1.2 Hyperkoagulace

Hyperkoagulace je neregulovaná aktivace koagulačního systému. Vede k ní selhání inhibitorů koagulace nebo insuficience fibrinolytického systému, které kontrolují hemostázu a zvýšení prokoagulační aktivity v krvi, označované jako hyperkoagulační stav – trombofilie (18).

Trombofilie (hyperkoagulace) může být vyvolána:

- 1) zvýšenou produkcí koagulačních faktorů, která je podmíněna:
  - a. geneticky (primární trombofilie)
  - b. druhotně v rámci reakce akutní fáze po traumatu, při infektu nebo při nádorovém bujení, fyziologicky se některé koagulační faktory zvyšují také v těhotenství;
- 2) porušenou regulací hemokoagulace, která je způsobena:
  - a. deficitem přirozených inhibitorů koagulace (hereditárním nebo získaným)
  - b. afunkcí receptorů pro tyto inhibitory,
  - c. rezistencí koagulačních faktorů proti aktivitě inhibitorů koagulace (hereditární nebo získanou);
- 3) dysfunkcí některých faktorů;
- 4) selháním fibrinolýzy (např. při nadbytku jejích inhibitorů nebo naopak při nedostatku aktivátorů plazminogenu);
- 5) některými metabolickými změnami (např. hyperhomocysteinemie) nebo hormony (např. estrogeny);
- 6) autoimunitními projevy - např. autoprotilátky proti endoteliálním, destičkovým nebo koagulačním fosfolipidům při tzv. antifosfolipidovém syndromu, nebo autoprotilátky proti proteáze štěpící multimery von Willebrandova faktoru – při tromboticko-trombocytopenické purpuře apod. (11).

## 1.2 Žilní trombóza

### 1.2.1 Definice žilní trombózy

Hluboká žilní trombóza je akutní onemocnění způsobené trombotickým uzávěrem nebo zúžením hlubokých žil na dolních končetinách (9). Jedná se o závažné onemocnění, které při komplikacích spojených s plicní embolií může ohrozit i život pacienta. Významné jsou též dlouhodobé následky onemocnění, především vznik chronické žilní nedostatečnosti (30).

### 1.2.2 Klinický obraz

Klinické známky žilní trombózy se často řadí podle frekvence výskytu do tohoto pořadí: otok, bolest, dilatace žil, kolaterály a změna barvy pokožky. Otok končetiny je unilaterální, náhle vzniklý, většinou spojený s pocitem difúzního napětí v celé končetině. Bolest v dolní končetině se objevuje ihned po došlápnutí, v těžších případech může být i v klidu. Mírná úleva nastává po elevaci končetin, kdy se zlepší žilní návrat. Lividní (cyanotické) zbarvení končetiny někdy pacient pozoruje sám, proto je tento znak řazen k anamnestickým údajům (30).



**Obr 2:** Žilní trombóza

(Zdroj: <http://www.tymprozdravi.cz/clanek/tromboembolicka-nemoc-ten-zilni-tromboza-a-plicni-embolie>)

### 1.2.3 Lokalizace

Podle lokalizace se rozlišuje trombóza proximální, která postihuje v. popliteu a vyšší etáže a trombóza distální - lokalizovaná v lýtkových žilách. Nejčastěji se trombóza objevuje v lýtkových žilách (až 80 %) a v pánevních žilách (9 %). Vysoký výskyt distálních trombóz pravděpodobně souvisí se zpomaleným tokem krve v distálních partiích dolních končetin. Předpokládá se, že trombóza vzniká nejčastěji v cípech žilních chlopní a v žilních sinusech (30).

### 1.2.4 Laboratorní vyšetření

Z laboratorních metod se používá hlavně rychlé vyšetření koncentrace D-dimeru v krevní plazmě nebo v plné krvi. V případě prokázané DVT (Deep Vein Thrombosis) je specificita všech testů D-dimeru 100 %. Jiné koagulační testy, které ukazují na hyperkoagulaci, nelze k diagnostice hluboké žilní trombózy pro jejich nespecifičnost nebo náročnost doporučit. Slouží jen jako doplňková vyšetření. Jedná se o tyto známky hyperkoagulace: pokles antitrombinu, zvýšení proteinů akutní fáze, zvýšená hladina fibrinogenu, leukocytóza, zvýšení krevní sedimentace, nález vyšší koncentrace komplexů trombinu-antitrombinu, fibrinopeptidu A, fragmentu protrombinu F1 + F2, fibrinových monomerů a zkrácení APTT. S výhodou je ale možné některý z těchto testů použít k monitorování průběhu onemocnění a k sledování úspěšnosti antitrombotické léčby (mizí pozitivita D-dimeru, zvýšené hladiny prokoagulačních markerů se normalizují), včetně odhadu rizika rekurence trombózy, kdy přetrvává zvýšení hladiny proteinů akutní fáze – např. CRP (C reaktivní protein), orosomukoidu a fibrinogenu. Po stanovení diagnózy hluboké žilní trombózy nebo v případě plicní embolizace je nutné ihned zahájit antikoagulační léčbu a teprve potom pátrat po vyvolávající příčině. Jinak hrozí nebezpečí z prodlení. Klinická účinnost nízkomolekulárních heparinů (LMWH – low molecular weight heparin) byla ověřena i při léčbě žilního tromboembolismu. Mohou se aplikovat hned v terénu, bez nutnosti zajištění laboratorní kontroly, která je potřebná při i.v. léčbě standardním nefrakcionovaným heparinem (30).

Hepariny se považují za přímá antikoagulantia, ale jejich účinek je zprostředkován především vazbou na antitrombin. Vysokou afinitu k antitrombinu mají frakce heparinu s nízkou molekulární hmotností (pod 6000 daltonů). Aktivita frakcionovaného nízkomolekulárního heparinu (LMWH) k antitrombinu je 4krát vyšší než aktivita nefrakcionovaného heparinu. O účinku heparinu tedy rozhodují velmi malé frakční fragmenty

schopné vazby na antitrombin. Antitrombotické působení heparinů nespočívá pouze v jejich antikoagulační aktivitě. LMWH uvolňují fibrinolytické markery a metabolity prostacyklinu. Klinicky se LMWH používají k prevenci žilních tromboembolismů a mají lépe předvídatelný antikoagulační účinek. Podání LMWH zpravidla významně neprodlužuje základní koagulační testy včetně aktivovaného parciálního tromboplastinového času (aPTT). Individuálně je užitečné kontrolovat antikoagulační odpověď na léčbu LMWH laboratorními testy. Používá se stanovení anti-Xa aktivity. Laboratorní kontrola pomocí anti-Xa se doporučuje u nemocných s renální insuficiencí, protože LMWH je vylučován ledvinami, dále u gravidních vzhledem k měnící se hmotnosti během gravidity a u dětí pro rozdílné koagulační poměry (14).

### 1.2.5 Ultrasonografie

Ultrazvuk jsou mechanické kmity o frekvenci vyšší než je horní frekvenční mez slyšitelnosti člověka, tj. více než 20 kHz (zdravé lidské ucho slyší frekvence v rozmezí v pásmu 50 Hz až 20 kHz). V lékařské diagnostice se však využívá mnohem vyšších frekvencí v megahertzovém pásmu (MHz), řádově okolo 2-15 MHz. Podstatou tvorby v současnosti nejčastějšího tzv. B-modu sonografického obrazu (z anglického "brightness", jasnost) je opakované vysílání slabého ultrazvukového vlnění do tkání vyšetřované oblasti. Jako vysílač a současně i jako detektor ultrazvukového vlnění slouží sonografická sonda, kterou lékař při vyšetření plynule pohybuje po povrchu kůže pacienta. Vyslané ultrazvukové vlnění se v orgánech těla na rozhraních tkáňových prostředí s odlišnou akustickou impedancí odráží zpět (obdobně jako např. světlo na odrazivé polopropustné ploše) a získané údaje o odrazech a jejich intenzitě (označované v sonografické terminologii jako echogenita) jsou následně pomocí počítačového zpracování sestaveny do výsledného virtuálního sonografického obrazu, který vznikne tak, že se amplitudy odražených signálů převedou do stupňů šedi (od černé po bílou). Sonografické 2D obrazy pozorovatelné real-time (tedy přímo v aktuálním čase) na monitoru sonografu jsou vlastně jakési "průřezy" (neboli skeny) tělem. Ultrazvuk tak snadno a přitom velmi detailně zobrazí veškeré tzv. měkké tkáně (29).

Ultrasonografické vyšetření žilního systému je neinvazivní metoda. Je to metoda, která k zobrazování tkání používá ultrazvuk - mechanické podélné vlnění s frekvencí vyšší než 20 000 Hz. Za pomoci ultrazvukového přístroje je možné zobrazit morfologii cévního systému a zjistit jeho funkci. Senzitivita vyšetření při diagnostice trombózy je ~98 %, specificita ~95 %. Metoda je indikována hlavně k potvrzení trombózy, když vznikne podezření na základě klinického obrazu. Rozlišují se přímé znaky trombózy, kam patří – viditelný trombus a



chybějící tok v žíle (i při dynamických testech) a nepřímé známky trombózy hlubokých žil, mezi které se řadí nekomprimovatelnost žíly tzn., je-li žíla vyplněna trombotickým materiálem, nelze ji sondou stlačit. Dalším znakem žilního uzávěru jsou rozšířené kolaterály a paréza venózních chlopní (1).

### **1.2.6 Příčiny žilní trombózy**

V prvé řadě se vylučuje při zjištění hluboké žilní trombózy a zahájení její léčby nádorová onemocnění. Žilní trombóza může být jejich prvním příznakem (známý Trousseauův příznak). Praxe ukazuje, že příčinou vzniklé žilní trombózy je malignita až v 10 %.

Pokud se neprokáže malignita, eventuálně infekce a příčinu nelze vztáhnout ke klinickým stavům, které způsobují žilní trombózu, zjišťují se po stabilizaci stavu pacienta další příčiny. Určuje se hladina inhibitorů koagulace – protein C, protein S (nejlépe ještě v době léčby s heparinem, jinak je výsledek zkreslen léčbou s warfarinem), F VIII, F IX, FXI, (F XII), a homocysteinu. V současnosti se rutinně vyšetřuje i DNA – faktor V Leiden (F V R506Q) a mutace protrombinu 20210A aj. V případě záchytu dědičné choroby je vhodné vyšetřit i příbuzné. Jedná se o aktivní depistáž s cílem osvěty a prevence vzniku tromboembolismu u disponovaných osob, u nichž k manifestaci trombofilie ještě nedošlo. Pokud již tyto osoby žilní tromboembolismus prodělaly, je vhodná jejich dispenzarizace ve spolupráci s angiologem (11).

### **1.2.7 Výskyt**

Prevalence trombózy se v civilizovaných zemích pohybuje kolem 2-3 %. Její incidence se udává mezi 50-160 na 100 000 obyvatel za rok. Výskyt trombózy zřetelně stoupá s věkem – v 5. dekádě života je incidence cca 17 na 100 000 obyvatel za rok. U pacientů po chirurgických zákrocích je nejvyšší výskyt trombózy po ortopedických operacích – po náhradě kyčelního kloubu ve 30-50 %, po náhradě kolenního kloubu dokonce ve 40-70 %. Často se též trombóza vyskytuje po gynekologických operacích pro malignitu (až ve 45 %), v urologii (po transvezikální prostatektomii cca ve 40 %), v břišní a hrudní chirurgii ve 20-30 %. Mimo chirurgické obory je značná prevalence trombózy u pacientů po cévní mozkové příhodě a u pacientů s kardiální insuficiencí (11).

Relativně novou klinickou entitou je tzv. cestovní trombóza. Odhaduje se, že tvoří dnes cca 9 % všech trombóz (14).

## **1.2.8 Vývoj hluboké žilní trombózy a embolizace do plic**

Většina drobných žilních trombóz sama regreduje. To nastává po aktivaci endogenního fibrinolytického systému, na němž se podílí jak aktivace plazminogenu, tak i aktivita proteolytických leukocytárních enzymů. Selhání fibrinolytického systému může být naopak jednou z hlavních příčin další progresse trombu, který pak dosahuje délky 20 a více centimetrů a má tendenci embolizovat. Asi 0,5-2 % hlubokých žilních trombóz je komplikováno akutní plicní embolií, která i přes dnešní pokroky v léčbě žilní tromboembolické nemoci může být letální. Podle výsledků studie ICOPER (International Cooperative Pulmonary Embolism Registry) z roku 1999 dochází po plicní embolii k úmrtí u 11 % nemocných do 14 dnů a u 17 % do tří měsíců. Jednou z příčin letálních konců je nerozpoznání hluboké žilní trombózy (nemusí být vždy provázena otokem nebo bolestí) i plicní embolie (11).

## **1.3 Plicní embolie**

### **1.3.1 Diagnostika plicní embolizace**

Diagnóza plicní embolie zůstává i nadále velkým medicínským problémem. Pacienti bývají často přijati pod jinou diagnózou, jako např. bronchopneumonie. Stává se, že embolizace není při hospitalizaci pacienta diagnostikována vůbec (5).

Drobnější embolizace do a. pulmonalis mohou probíhat i úplně asymptomaticky. Drobná embolizace se dá zachytit jen tehdy, jestliže se indikuje vyšetření perfuzního plicního scanu. Perfuzní scan je vyšetření, které umožňuje zjistit průtok krve plícemi. Je to izotopové vyšetření, při němž podání radioaktivní látky do krve umožní rozlišit, kterými částmi plic krev protéká a kterými nikoliv (23).

Na RTG plic vestoje nebo vsedě jsou známkou plicní embolie elevace bránice na straně embolizace, oligemie plíce za embolií nebo atelektázy. Pozitivní nález na EKG znamená, že již došlo k hemodynamickým změnám, které jsou vyvolány plicní hypertenzí po embolizaci do plicnice. Při echokardiografickém vyšetření je při akutní plicní embolii zjištěna dilatace pravé komory, zejména na konci diastoly a někdy je možné zjistit v pravé síni trombus. Při ultrazvukovém duplexním scanu žil dolních končetin je pak u těchto pacientů většinou detekován trombus. Toto vyšetření se provádí ihned po pozitivním nálezu D-dimerů. Pro diagnózu plicní embolie je však nejprůkaznější pozitivní nález při plicní arteriografii.

Provedení tohoto vyšetření diagnózu embolie do a. pulmonalis potvrdí, nebo vyvrátí. Specificita vyšetření se pohybuje mezi 95-98 % a senzitivita kolem 98 % (14).

I přes tuto skutečnost je však záchyt diagnostikované plicní embolie stále vysoký. Odhadem je v Evropě diagnostikováno asi 0,5-1,0 plicní embolie na 1000 obyvatel ročně. Skutečný výskyt však bude pravděpodobně ještě větší, neboť většina plicních embolií není zachycena (14).

Podle guidelines Evropské kardiologické společnosti se plicní embolie dělí podle klinické symptomatologie na dvě hlavní skupiny:

- masivní plicní embolie – tu provází šoková reakce a hypotenze (systola pod 90 mm Hg, diastola pod 40 mm Hg), která trvá déle než 15 minut a které nebyly vyvolány arytmií, hypovolemií nebo sepsí,
- nemasivní plicní embolie – při ní mají někteří pacienti při echokardiografickém vyšetření nález hypokinézy pravé srdeční komory (28).

### **1.3.2 Příznaky plicní embolie**

- náhlé zhoršení dechu (klidová dyspnoe je u asi 82 % akutních embolizací)
- tachypnoe (frekvence dechů je více než 24 za minutu)
- tachykardie (tepová frekvence je vyšší než 100 tepů za minutu)
- pleurální bolesti na hrudi (asi v 49 %)
- suchý kašel bez příčin (v 20 %)
- náhlý kolaps a pokles tlaku

Jmenované příznaky se vyskytují zejména u pacientů se žilní trombózou, po operaci, traumatu nebo zlomenině (zejména s těsnou dlahou), dále u žen užívající hormonální antikoncepci či substituci v klimakteriu, při komplikovaném těhotenství (preeklampsie, gestóza, potraty, zánět, císařský řez), při sepsi, u dlouhodobě ležících nebo nepohyblivých pacientů s plegií dolních končetin, u osob s nádorovými chorobami, u pacientů, kteří měli žilní trombózu již dříve. Dále jsou to osoby, u nichž byla v rámci depistáže zjištěna při genetickém vyšetřování v rodině některá z dědičných trombofilií (11).

### **1.3.3 Příčiny embolizace**

Zdrojem embolie do plicnice bývá většinou hluboká žilní trombóza v ileofemorální oblasti dolních končetin (asi v 85 %). Méně často plicní embolie pochází z hlubokých žilních

trombóz v bérkové oblasti nebo ze žilních trombóz v pánevní oblasti. Mezi nejčastější příčiny, které vedou k nestabilitě trombu a k jeho odloučení od žilní stěny patří mechanický tlak v žilním řečišti při defekaci, kašel, zvracení apod. Nestabilita žilního trombu je pozorována také u některých dysfibrinogenemií nebo při mutaci F XIII (11).

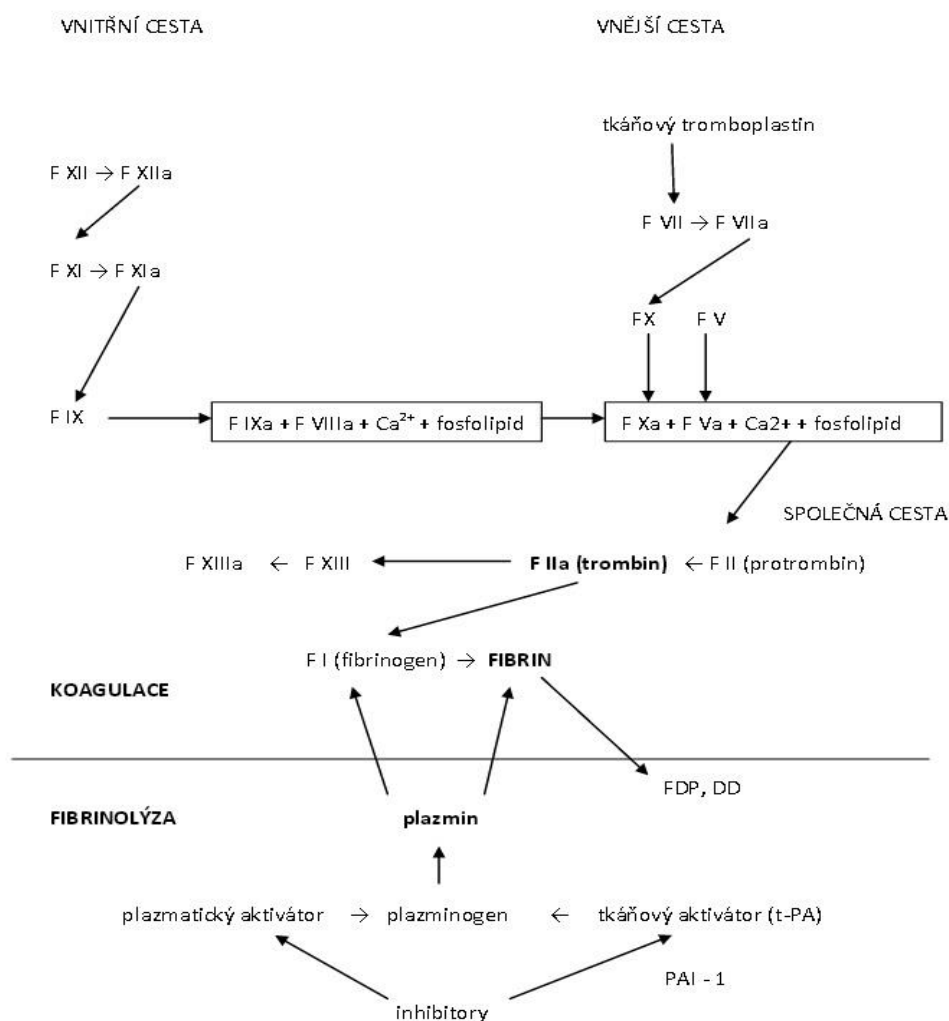
### **1.3.4 Rekurence plicní embolie**

Dle studie ICOPER dochází u 7,5 % nemocných s plicní embolií po třech měsících k jejímu opakování. V této skupině nemocných byla zjištěna velká mortalita – 33,7 % pacientů zemřelo do 14 dnů a 46,8 % do tří měsíců po opakování plicní embolie (11).

## **1.4 Fibrinolýza**

Fibrinolýza je fyziologická, dynamická a současně vysoce kontrolovaná odpověď organismu na tvorbu fibrinových depozit. Jde o přirozený proces organismu pro rozpouštění vzniklého fibrinového trombu (15). Fibrinolytický systém představuje složitou síť aktivátorů a inhibitorů, které jsou propojeny velkým množstvím pozitivních i negativních zpětných vazeb. Ty zajišťují jemnou, ale vysoce přesnou regulaci rovnováhy v systému. Vlastním enzymem fibrinolýzy je plazmin, který vzniká štěpením plazminogenu působením tzv. aktivátorů plazminogenu. Mezi aktivátory plazminogenu patří tkáňový aktivátor plazminogenu (t-PA) v cévním řečišti a extravaskulárně urokináza (u-PA). Aktivní plazmin je enzym, který umožňuje štěpení fibrinového koagula, ale také fibrinogenu na degradační produkty souhrnně označované jako FDP (fibrinogen a fibrin degradační produkty). Jsou to peptidy, které se označují jako peptidy X,Y (přechodné meziprodukty) – vysokomolekulární a D, E (hlavní konečné produkty) – nízkomolekulární. Při proteolytické degradaci nerozpustného fibrinu plazminem probíhá štěpení déle než štěpení fibrinogenu, protože je fibrin proti plazminu relativně odolný (16).

Stabilizací fibrinu faktorem XIIIa se vytvoří kovalentní vazba, která je enzymy přítomnými v organismu neštěpitelná. Tyto vazby mají za následek, že se fragmenty X a Y od sebe neuvolňují (10).



**Obr 3:** Koagulační kaskáda (Zdroj: Procházková, 2013)

### 1.4.1 Funkce fibrinolytického systému

Nejdůležitější role, kterou fibrinolytický systém plní, je modulace angiogeneze a remodelace cév a procesy, které úzce souvisí s ovlivněním nejdůležitějších civilizačních chorob současnosti – kardiovaskulárních a neoplastických onemocnění (16).

Remodelace cév je komplexní a kontinuální proces, na němž spolupracuje řada buněk, které si předávají signály a vzájemně se ovlivňují, často změnami ve strukturách extracelulárních matrix. Proces remodelace cév může být iniciován mechanickými, zánětlivými i biochemickými inzulty (16).

Fibrinogen výrazně ovlivňuje reologické vlastnosti krve, zajišťuje agregaci destiček a váže se i na receptory aktivovaných leukocytů a endotelií. Antihemostatické funkce

fibrinogenu spočívají v jeho vazbě aktivního trombinu a ve schopnosti fibrinu potencovat aktivaci plazminogenu přes tPA (4).

Poruchy přesně balancované rovnováhy anti- a profibrinolytických pochodů mohou vést ke krvácivým nebo hyperkoagulačním projevům při různých patologických stavech (3).

## **1.4.2 Fibrinolytické látky**

Všechny fibrinolytické látky působí jako aktivátory plazminogenu. Při jejich terapeutickém použití převládá tvorba plazminu nad působením endogenních inhibitorů a nastává různě výrazný systémový trombolytický stav. Mezi vlastnosti ideálního fibrinolytika patří vysoká účinnost, rychlý nástup účinku, pomalá plazmatická clearance, snížená tendence ke krvácení, lýza destičkových trombů a nízká cena. Fibrinolytická terapie se v současnosti uplatňuje u celé řady chorobných stavů. Fibrinolýza se stále více používá v léčbě žilního tromboembolismu nebo u trombotických uzávěrů periferních tepen (30).

### **1.4.2.1 Fibrinolytika 1. generace**

#### **Streptokináza**

Streptokináza je nejstarším známým fibrinolytikem. V roce 1933 byla popsána Tillemem a Garnerem jako fibrolyzin. Je to bílkovina bakteriálního původu, která se skládá z jednoho polypeptidového řetězce o 415 aminokyselinách. Je získávána purifikací filtrátů kultur určitých kmenů  $\beta$ -hemolytických streptokoků, a proto je antigenní a po jejím podání dochází k tvorbě protilátek. Tento fakt výrazně omezuje možnost podání streptokinázy opakovaně. Streptokináza není přímým aktivátorem plazminogenu (na rozdíl od většiny ostatních fibrinolytik). Při působení streptokinázy dochází k systémové plazminemii s následnou deplecí fibrinogenu, plazminogenu a koagulačních faktorů V a VIII. Tím je navozen systémový hypokoagulační stav, který může snižovat riziko retrombózy (30).

#### **Urokináza**

Urokináza je přirozená serinová protéza, která je produkována endotelem v ledvinách a cévním systému. Urokináza je přímým aktivátorem plazminogenu. Neváže se na fibrin, takže dochází k extenzivní systémové fibrinolýze. Klinický vývoj byl ukončen vzhledem k vysoké ceně a rizikům spojených s přenosem infekce (30).

#### **1.4.2.2 Fibrinolytika 2. generace**

Látky této skupiny se vyznačují vyšší fibrin-specificitou. V terapeutických dávkách vyvolávají mírné až středně významné snížení cirkulujícího fibrinogenu a plazminogenu. Nižší stupeň systémové proteolýzy neznamená automaticky nižší riziko komplikací (30).

##### **Altepláza**

Altepláza je přirozená serinová protéza produkovaná cévním endotelem. Není antigenní, takže se po ní nevyskytuje alergická reakce. Její vývoj byl ukončen, když studie neprokázaly lepší účinnost ve srovnání se streptokinázou (30).

#### **1.4.2.3 Fibrinolytika 3. generace**

Fibrinolytika 3. generace jsou konstruována cílenými modifikacemi přirozených aktivátorů humánního, bakteriálního nebo živočišného původu, nebo jde o hybridní látky vzniklé spojením částí různých molekul (30).

##### **Retepláza**

Retepláza je produkovaná v kulturách E.Coli. Není antigenní a má nižší afinitu k fibrinu než t-PA. Po podání reteplázy dochází k depleci fibrinogenu, která je menší než po streptokináze, ale výraznější než po t-PA. V klinické praxi se neprokázal vznik specifických protilátek (30).

##### **Stafylokináza**

Stafylokináza je bílkovina produkovaná některými kmeny Staphylococcus aureus. Na rozdíl od streptokinázy má stafylokináza velmi vysokou specifitu k fibrinu. Stafylokináza je antigenní, takže většina pacientů vyvine s odstupem 1 až 2 týdnů po léčbě neutralizující protilátky, jejichž titry přetrvávají několik měsíců (30).

## 1.5 D-dimery

### 1.5.1 Význam D-dimerů

D-dimer slouží jako marker trombofilních stavů. Splňuje totiž všechny požadavky, které by marker takovýchto stavů měl obsahovat. Jeho hladina odráží aktuální aktivaci systému in vivo a není produkován ex vivo. Stanovení kovalentní vazby D-dimerů se provádí specifickými monoklonálními protilátkami v krvi, plazmě, séru nebo moči různými detekčními metodami (aglutinačně, imunoturbidimetry, fluorescenčně) (19).

D-dimer je klíčovým indikátorem čerstvé tromboembolické příhody (17).

Význam D-dimerů jako specifických štěpných produktů fibrinů při diagnostice hyperkoagulačních stavů je znám. Testy na přítomnost D-dimerů jsou vysoce senzitivní, málo specifické a mají významnou negativní prediktivní hodnotu, kdy negativita přítomnosti D-Dimerů prakticky vylučuje přítomnost trombotického procesu v organismu. Jejich zvýšená hladina se nalézá u tromboembolické nemoci, DIC, ale také při poranění, po operaci a zánětlivých onemocněních. Bývají zvýšeny nejen při aktivaci fibrinolýzy, trombolytické léčbě, ale také při hepatopatiích nebo při odvržení transplantovaných štěpů. Fyziologicky bývá zvýšená koncentrace v těhotenství, po porodu nebo po namáhavé dlouhotrvající práci (19).

### 1.5.2 Vyšetření D-dimeru

Vyšetření D-dimerů se provádí imunologickými metodami, využívajícími různé typy monoklonálních protilátek proti D-dimerům (12). Ke stanovení se používají nejčastěji metody latexaglutinační tj. semikvantitativní metoda a LIA (liquid immune assay) tj. kvantitativní metoda (20).

Princip LIA metody je založen na střetu paprsku monochromatického světla se suspenzí mikrolatexových částic pokrytých specifickou protilátkou (6). Jestliže je vlnová délka větší než průměr latexových částic (není přítomen antigen D-dimerů), dochází pouze ke slabé absorpci. V přítomnosti antigenu dochází k aglutinaci a vzniku agregátů větších než vlnová délka procházejícího světla. Tím dochází i k vyšší absorpci světla, která je úměrná hladině antigenu ve vzorku (32).



### 1.5.3 Výsledky vyšetření D-dimeru

Výsledky se vyjadřují buď tzv. fibrinovým ekvivalentem FEU (F.E.U – Fibrinogen Equivalent Unit) nebo pomocí D-dimerových jednotek ( DDi). Mezi jednotkami platí vztah: 1 F.E.U. = 2 DDi jednotky (17).

Význam má především negativní výsledek, který má vysokou prediktivní hodnotu při podezření právě na hyperkoagulaci (19).

A právě správná prezentace výsledku vyšetření D-dimerů vede k přesnému určení diagnózy pacienta (22).

### 1.5.4 Diagnostická senzitivita a specifita

Diagnostická senzitivita (citlivost) je definována jako podíl počtu nemocných s pozitivním testem a celkového počtu testovaných nemocných. Je tedy ukazatelem spolehlivosti metody odhalit nemoc. Charakterizuje se jako pravděpodobnost, že výsledek testu bude pozitivní, je-li vyšetřovaná osoba nemocná. Hodnota sensitivity se pohybuje od 0 do 1 (tj. 0 – 100 %). Diagnosticky nejcennější metody mají nejvyšší senzitivitu (24).

Diagnostická specifita je definována jako podíl počtu zdravých osob s negativním testem a celkového počtu testovaných zdravých osob. Specifita je měřítkem spolehlivosti metody vyloučit přítomnost nemoci a vyjadřuje pravděpodobnost negativního výsledku u zdravého jedince. Její hodnota se opět pohybuje v rozmezí 0 – 1 (tj. 0- 100 %). Také zde je žádoucí, aby metoda měla co nejvyšší specifitu (24).

Rozhodující pro poměr diagnostické senzitivity a specifity je určení takové hodnoty testu, od které bude výsledek považován za pozitivní (tzv. „cut-off value“, diskriminační hodnota). Vztah mezi senzitivitou a specifitou, který vyjadřuje jejich vzájemnou závislost, lze znázornit pomocí tzv. ROC křivky (Receiver Operating Characteristics) (25). Hodnota diagnostické senzitivity se uvádí při specifitě 90 či 95 %. Jinou možností je uvedení těchto dvou parametrů při konkrétní hodnotě „cut-off“. Dalším způsobem vyjádření je udání diagnostické senzitivity a specifity v místě největšího zakřivení grafu, které je nazýváno operační bod (24).

Jestliže má metoda sloužit ke screeningovým účelům, volí se hodnota „cut-off“ tak, aby metoda byla 100% citlivá. Síto musí zachytit všechny nemocné a metoda nesmí dát žádný falešně pozitivní výsledek (2).

## 1.6 Zahraniční studie

Správnou prezentací výsledků D-dimerů k určení diagnózy hyperkoagulačních stavů se zabývaly studie uvedené v odborných časopisech *Jurnal Thrombo Hemost* 2012 a *Haematologica-The Hematology Journal* 2012. Účelem obou studií bylo prokázat nutnost použití proměnné hodnoty cut-off D-dimerů u pacientů nad 50 let k bezpečnému vyloučení hluboké žilní trombózy a plicní embolie.

### 1.6.1 Haematologica–The Hematology Journal

Název článku: *„Použití proměnného cut-off D-dimeru modifikovaného věkem pacienta zvyšuje u starších pacientů možnost bezpečného vyloučení trombózy hlubokých žil.“*

Studie, která se zabývala využitím proměnného cut-off D-dimerů k vyloučení žilní trombózy byla provedena na 2818 pacientech rozdělených do pěti skupin. Pacienti byli zastoupeni v tzv. šedé zóně – s výsledky slabě pozitivními nebo kolem prahové hodnoty. Ke studii byly použity čtyři různé druhy testů D-dimerů. Standardní cut-off hodnoty D-dimerů byly porovnány s modifikovanými cut-off hodnotami (věk pacienta x 10). Výsledkem této studie bylo při použití věkem modifikované cut-off hodnoty vyloučeno 850 (51 %) pacientů oproti 707 (42 %) pacientů, u kterých byla použita standardní cut-off. Nejvíce pacientů s vyloučenou DVT byli pacienti nad 70 let. Zde rozdíl činil 19 %. (7).

### 1.6.2 Jurnal Thrombo Hemost 2012

Název článku: *„Použití proměnného cut-off D-dimeru modifikovaného podle věku pacienta k vyloučení plicní embolie.“*

Při této studii proběhla externí validace proměnné hodnoty cut-off za použití různých souprav pro stanovení D-dimerů na souboru pacientů z oddělení akutního příjmu. Byly analyzovány tři databáze (dvě evropské a jedna americká) pacientů s podezřením na plicní embolii - celkem 4537 osob. Hodnoty D-dimerů byly stanovovány na třech různých měřicích systémech. Také zde byly porovnávány standardní hodnoty cut-off s modifikovanými. Studie potvrdila, že u pacientů nad 50 let má použití věkově závislé cut-off hodnoty D-dimerů pro vyloučení plicní embolie signifikantní klinický přínos právě pro vyloučení falešně pozitivních

výsledků. Největší rozdíl se projevil u pacientů nad 75 let. Se standardním cut-off bylo na plicní embolii pozitivních 27,9 % pacientů, modifikovaný cut-off vykázal pozitivitu pouze u 12,3 % pacientů (8).

## **1.7 Preanalytická fáze**

### **1.7.1 Odběr krve**

Odběr krve může někdy výrazně zkreslit výsledek vyšetření, proto je nutné zajistit určité standardní odběrové podmínky. Ty musí do jisté míry zaručit objektivitu vlastního odběru (17).

### **1.7.2 Příprava pacienta před odběrem**

Pokud se jedná o komplexní odběr pro biochemická a hematologická vyšetření, provádí se zpravidla ráno na lačno, protože většina látek a počet krvinek v krevní plazmě během dne významně kolísá. Před odběrem je důležitý i celkový psychický stav vyšetřované osoby. Tento faktor bývá dost často podceňován. Při stresu dochází ke zvýšenému vyplavování hormonů (aldosteron, katecholaminy, růstový faktor). Z hematologických parametrů byly při stresu pozorovány vyšší koncentrace fibrinogenu (17).

### **1.7.3 Pravidla správného odběru krve**

- U některých vyšetření je důležité, aby ošetřující lékař poskytl laboratoři údaj o léčbě pacienta (antikoagulační léčba apod.).
- Z důvodu bezpečnosti pacientů i pracovníků laboratoře se používají pouze jednorázové prostředky a doporučené dezinfekční prostředky (dezinfekční prostředek musí na kůži zaschnout, aby nedošlo k hemolýze odebrané krve a tak k jejímu znehodnocení).
- U nesrážlivé krve se vyžaduje jemné, ale účinné promísení krve s antikoagulační látkou (nejlépe 5-10krát převrátit nádobku dnem vzhůru). K hemokoagulačnímu vyšetření se využívá schopnosti citrátu sodného vyvazovat kalciové ionty.
- Odběr se provádí nejčastěji z vena cubitalis.

- Vpich jehlou do žíly musí být hladký, přímý, bez zbytečné manipulace v tkáních.
- K hematologickému vyšetření se používá zpravidla druhá, případně další odběrová nádobka. Nikdy se nepoužívá první odběrová nádobka, protože odběrový systém není zcela inertní k fyziologickým vlastnostem krvinek a plazmy (v systému může docházet k vychytávání krevních destiček a k aktivaci plazmatických koagulačních faktorů) (17).

#### **1.7.4 Odběr krve pro koagulační vyšetření**

K odběru se používá převážně venózní krev. V případě, že je zavedena kanyla lze použít i krev arteriální. U arteriální krve je nutné propláchnout kanylu krví. Kapilární krev ve většině případů není vhodná, protože po vpichu do podkoží dochází k volnému výronu krve a krev se stýká s místem poranění. Může proto docházet k aktivaci hemostatických procesů stykem s poraněnou tkání. Ke koagulačním odběrům se používají jehly o větší světlosti (světlost 0,7-1 mm). Odběr by měl probíhat, pokud je to možné v leže, mezi 7. - 9. hodinou ráno a 12 hodin po posledním jídle (27).

Jako antikoagulant se používá ve většině případů citrát sodný v poměru s krví 1:10. Při odběru se naplní odběrová nádobka krví přesně po nominální hodnotu a krev s antikoagulantem se důkladně promíchá. Zkumavka se 5-10krát převrátí dnem vzhůru (v žádném případě se nesmí třepat, mohlo by dojít k traumatizaci buněk a nežádoucímu napěnění materiálu). Nedostatečné promíchání vede k částečné aktivaci hemostatických procesů, případně se může odebraná krev v odběrové nádobce srazit (17).

#### **1.7.5 Označení biologického materiálu**

Pro jednoznačnou identifikaci je nutné označit biologický materiál minimálně:

- rodným číslem (číslem pojištěnce)
- příjmením pacienta

#### **1.7.6 Základní údaje na požadavkovém listu**

Požadavkové listy se do laboratoře mohou zasílat v tištěné nebo elektronické formě. Musí obsahovat tyto minimální údaje:

- rodné číslo (číslo pojištěnce)
- jméno a příjmení pacienta
- zdravotní pojišťovnu pacienta
- kód požadujícího zařízení, případně IČZ nebo adresu pracoviště, včetně telefonního čísla
- kód diagnózy
- požadovaná vyšetření
- datum a čas odběru biologického materiálu
- podpis lékaře

### **1.7.7 Transport biologického materiálu do laboratoře**

Transport materiálu, vzhledem k tomu, že se jedná o biologický materiál, se provádí v uzavřených boxech nebo kontejnerech. Ty musí splňovat náročné požadavky během přepravy např. těsnost a odolnost proti otřesům. Přeprava biologického materiálu a jeho skladování před vlastním vyšetřením, pokud není u daného vyšetření požadováno jinak, se provádí při teplotě 20-25°C. Odebraný materiál musí být do laboratoře doručen v co nejkratší době. Plazma pro koagulační vyšetření musí být oddělena od krevních buněk nejpozději do 2 hodin po odběru (17).

### **1.7.8 Kontrola vzorku biologického materiálu**

Před vlastním vyšetřením je nutné vzorek prohlédnout a vyřadit ty vzorky, které nelze z různých důvodů vyšetřit (sražený materiál, nedostatečné množství materiálu k vyšetření aj.). Změny biologického materiálu, mezi které se řadí hemolýza, částečně sražený vzorek, ikterický a chylózní vzorek se zaznamenávají do komentáře k vyšetření. Určitý vliv na výsledek může mít i hodnota hematokritu. Pokud hematokrit klesne pod hodnotu 0,30 nebo naopak stoupne nad hodnotu 0,55 mění se poměry mezi plazmou a antikoagulantem (17).

### **1.7.9 Příprava citrátové plazmy chudé na obsah krevních destiček pro koagulační vyšetření**

Citrátová krev se centrifuguje za standardních podmínek (20-25°C, 2 000-2 500 g, 15 min). Plazma se oddělí od sedimentovaných krvinek a pokud se nepoužije ihned k vyšetření, je možné plazmu zmrazit při teplotě -60 až -80°C (17).

## 2 CÍLE A HYPOTÉZY

### 2.1 Cíle práce

- Ověření nutnosti použití věkem modifikované hodnoty cut-off koncentrace hladiny D-dimeru u pacientů nad 50 let pro bezpečné vyloučení hyperkoagulačních stavů na statisticky dostatečně významném souboru pacientů
- Laboratorní zpracování 300 vzorků pacientů (dva soubory - preventivní a suspektní vyšetření)
- Porovnání hodnot obou souborů
- Porovnání hodnot hladiny D-dimerů s výsledky ultrasonografie.
- Určení senzitivity a specificity testu
- Určení hodnoty cut-off
- Porovnání naměřených hodnot s literaturou (studií)
- Ověření optimalizace metody D-dimerů pro diagnostiku hyperkoagulačních stavů

### 2.2 Hypotézy

- Předpoklad rozdílných hodnot koncentrací D-dimerů v souborech preventivního a suspektního vyšetření.
- Předpoklad positivity testu D-dimeru při diagnostikované hluboké žilní trombóze pomocí ultrasonografie.
- Předpoklad zvýšení hodnot koncentrace D-dimeru v závislosti na stoupajícím věku pacienta (u pacientů nad 50 let) a zavedení věkem modifikovaného cut-off pro vyloučení falešně pozitivních výsledků u pacientů se suspektní diagnózou DVT nebo PE.

## 3 MATERIÁL A METODY

### 3.1 Vyšetřované soubory vzorků

Vzorky k této práci byly získány převážně z hematologické ambulance a z interní ambulance Nemocnice Jindřichův Hradec a.s. v časovém úseku třech měsíců. Laboratoř vyšetřuje na předemtné kohortě pacientů více než 100 stanovení měsíčně a následně uvedeným postupem jsem tedy zpracovala soubor celkem 300 vzorků. Tento datový soubor obsahuje základní informace potřebné ke studiím této práce – číslo vzorku, rok narození, pohlaví, diagnózu, koncentraci D-dimeru a u pacientů, kterým bylo provedeno ultrasonografické vyšetření žil i výsledek vyšetření. Zdrojem výsledků ultrasonografického vyšetření mi byl nemocniční informační systém FONS Akord STAPRO. Soubor s názvem „Vstupní data SONO“ jsem označila číslem 1. (viz 10. Přílohy: Datový soubor č.1 Vstupní data SONO) a slouží jako základní a zdrojový datový soubor.

Ke studii „Porovnávání hodnot D-dimerů preventivního a suspektního vyšetření“ bylo z výše definovaného zdrojového souboru č.1 „Vstupní data SONO“ vyčleněno 53 pacientů ve věku do 50 let z hematologické ambulance, kterým byl D-dimer naordinován lékařem z důvodu preventivního vyšetření, do kterého patří dědičné zátěže trombofilních stavů nebo vyšetření žen před začátkem užívání hormonální antikoncepce a 22 pacientů ve věku do 50 let z interní ambulance se suspektním podezřením na žilní trombózu. Extrahovaná data jsou přehledně shromážděna v datovém souboru č.2 : Preventivní vs. suspektní vyšetření (viz 10. Přílohy: Datový soubor č.2 : Preventivní vs. suspektní vyšetření) a podrobný postup je popsán v kapitole 4. Výsledky, podkapitola 4.1 Porovnávání hodnot D-dimerů preventivního a suspektního vyšetření.

Obdobně byl pro studii „Výpočet hodnoty cut-off v závislosti na věku pacienta“ ze zdrojového souboru získán datový soubor č.5: Vstupní data ke grafu DD vs věk (viz 10. Přílohy: Datový soubor č.5: Vstupní data ke grafu DD vs věk), který shrnuje všechny vzorky podle věku a je doplněn výpočty modifikované hodnoty cut-off pro jednotlivé vzorky. Celý postup je podrobně popsán v kapitole 4. Výsledky, podkapitola 4.2 Výpočet hodnoty cut-off v závislosti na věku pacienta.

Studie „Porovnání hodnot D-dimerů s výsledky ultrasonografického vyšetření“ vychází z datového souboru č.3 (viz 10. Přílohy: Datový soubor č.3: Porovnání hodnot D-dimerů s výsledky ultrasonografického vyšetření žil) a metodika je popsána v kapitole 4.

Výsledky podkapitola 4.3 Porovnání hodnot D-dimerů s výsledky ultrasonografického vyšetření.

Pro studii „Výpočet a ověření hodnoty cut-off používané v hematologické laboratoři“ jsem vytvořila další datový soubor č.4 Senzitivita vs specificita (viz 10. Přílohy: Datový soubor č.4: Senzitivita vs specificita), ve kterých jsem využila data a hodnoty ze souboru č.1. Podrobnosti jsou popsány v kapitole 4. Výsledky podkapitola 4.4 Výpočet a ověření hodnoty cut-off používané v hematologické laboratoři.

### **3.2 Preanalytická fáze**

Pro odběr krve určené na koagulační vyšetření se v Nemocnici v Jindřichově Hradci a.s. používají zkumavky BD Vacutainer o objemu 4,5 nebo 2,7 ml. Tyto zkumavky obsahují protisrážlivé činidlo 0,129M citrát sodný. O jejich použití informuje Laboratorní příručka oddělení hematologie a krevní transfuze (26).

Na oddělení hematologie se krevní vzorky transportují z jednotlivých oddělení nemocnice v transportních boxech, ve kterých jsou umístěny teplotní datalogery snímající teplotu prostředí. Teplotní údaje má laboratoř k dispozici ke kontrole.

Při příjmu biologického materiálu se v první řadě provádí kontrola kvality vzorku, tedy správně odebrané množství krve ve zkumavce a přítomnost sraženiny v důsledku nedostatečného promíchání vzorku s antikoagulantem těsně po odběru. Následuje kontrola údajů na zkumavce a na požadavkovém listě. Při chybějících údajích, nebo pokud se údaje na zkumavce a žádance liší, je vzorek laboratoří odmítnut k vyšetření. Velmi důležitý je také údaj o čase odběru, neboť krev určená ke koagulačnímu vyšetření se musí zpracovat do 2 hodin po odběru. Případné zjištěné neshody při příjmu biologického materiálu jsou zapisovány do Deníku neshod a v LIS k údajům pacienta. Odpovědný pracovník následně telefonicky informuje o neshodě žadatele. Pokud všechny údaje souhlasí, provede se zápis pacienta s požadovaným vyšetřením do LIS. Systém vytvoří čárové kódy, kterými se identifikuje požadavkový list s příslušným krevním vzorkem. Další kontrola vzorku se provádí po centrifugaci. Pokud je vzorek silně hemolytický nebo chylózní opět dochází k odmítnutí vzorku k vyšetření.



### 3.3 Centrifugace

Vzorky určené k vyšetření D-dimerů se centrifugují při teplotě 20-25°C, 2500 g 15 minut. K centrifugaci se nepoužívá chlazených centrifug, protože by mohlo dojít k uvolnění nežádoucích složek z traumatizovaných buněk (17).

Centrifugy Megafuge 01 a Rotofix 32 jsou umístěné v oddělené části hematologické laboratoře z důvodu bezpečnosti a šíření aerosolu. Údaje o pravidelných kontrolách, validacích a údržbě centrifug jsou vedeny v provozních denících.



**Obr 4:** Centrifuga Megafuge 1.0 (*Zdroj: vlastní foto*)



**Obr 5:** Centrifuga Rotofix 32 (Zdroj: vlastní foto)

### **3.3 Analýza vzorků**

#### **3.3.1 Koagulační analyzátor**

Analýzu vzorků určených k této bakalářské práci jsem prováděla na automatickém koagulačním analyzátoru ACL Elite Pro. Analyzátor používá k detekci krevních sraženin nefelometrickou metodu. Je určen pro analýzu krevní koagulace pro In Vitro diagnostiku v klinických laboratořích. Systém využívá koagulačních, chromogenních a imunologických principů metod. Pro stanovení D-dimerů se využívá imunologická metoda, která je založena na reakci protilátky s antigenem. Protilátka je ukotvena na latexových částicích. Po přidání ke vzorku z něj vyvazuje analyt a dochází k agregaci latexových částic. Stupeň agregace je přímo úměrný koncentraci analytu v testovaném vzorku a je stanoven nefelometricky. Analyzátor měří množství rozptýleného světla ve vzorku v úhlu 90°. V chromogenním kanálu je zdrojem

světla halogenová lampa, ze které záření proniká do reakční kyvety umístěné v rotoru pomocí křemenného optického vlákna a zaostřovacího systému. Pro analýzu se provádí volba vlnové délky pomocí úzkopásmového filtru se středem v 405 nm.

V analyzátoru je umístěn zásobník pro 40 zkumavek včetně pozic určených pro kalibrátory a lahvičky s reagensy (označené A1- A10). 8 pozic pro reageny je chlazených, 4 pozice mají laboratorní teplotu a zároveň jsou vybaveny míchacím mechanismem. Optické snímače umístěné kolem zásobníku rozeznávají přítomnost a množství reageny v lahvičce. Pipetovací rameno se skládá ze dvou jehel z nerezové oceli, které dávkuje jak reageny, tak analyzované vzorky. Rotory jsou polystyrenové jednorázové kyvety propouštějící UV světlo určené pro analýzu vzorků. Jsou umístěné v zásobníku a automaticky podávány podavačem. Použité rotory se likvidují a třídí do biologického odpadu.



**Obr 6:** Analyzátor ACL ELITE PRO

(Zdroj:<http://www.beckmancoulter.com/ucm/idc/Gross>)

### 3.3.2 Postup měření

Před vlastním měřením vzorků jsem provedla kontrolu reagensů – správné množství, datum expirace a jejich správné umístění na předem definovaných pozicích v analyzátoru. Další kontrola se týkala analyzátoru. Kontrolovala jsem dostatečné množství kyvet v zásobníku a množství Wash-R emulze k promytí analyzátoru, Faktor diluent a Cleaning solution – reagensie potřebné k analýze vzorků. Dále jsem zkontrolovala test kalibrace, který je specifický pro danou šarži reagensů. Následně jsem provedla měření komerčních kontrol s deklarovaným obsahem D-dimerů. Souprava HemosIL™ Controls obsahuje 5 vzorků s deklarovanou nízkou hodnotou D-dimeru a 5 vzorků s vysokou hladinou. Vzorky kontrol jsou lyofilizované a tvoří je částečně purifikovaný fibrin naštěpený lidským plazminem, hovězí sérový albumin, pufr, stabilizátory a konzervační látky. Před měřením jsem kontrolní vzorky rozpustila v 1 ml destilované vody a opatrně protřepala. Po rozpuštění jsem oba vzorky temperovala 15 minut při laboratorní teplotě. Po uplynutí doporučené doby temperování jsem kontrolní vzorky změřila. Kromě této vnitřní kontroly kvality, účastní se hematologická laboratoř 4x do roka cyklu externího hodnocení kvality pro tento test. Po kontrole analyzátoru a správnosti naměřených kontrol jsem měřila hodnoty D-dimerů ve vzorcích. K měření jsem používala reagensie setu HemosIL™ D-Dimer. Souprava obsahuje 4 lahvičky latexové reagensie (R), 4 lahvičky reakčního pufru (B) a 2 lahvičky D-dimer kalibrátoru (C).

Latexová reagensie – lyofilizovaná suspenze polystyrenových latexových částic pokrytých myší monoklonální protilátkou proti D-dimeru, hovězí sérový albumin, pufr, stabilizátor, konzervační látky.

Reakční pufr – fosfátový pufr, hovězí sérový albumin, stabilizátor, konzervační látky.  
D-dimer kalibrátor – lyofilizovaný roztok D-dimeru, částečně purifikovaný z lidského fibrinu naštěpeného lidským plazminem, hovězí sérový albumin, stabilizátor, konzervační látky.

Lyofilizovanou latexovou reagensi jsem smíchala se 3 ml aqy pro iniectione. Stejně jsem připravila i D-dimer kalibrátor, pouze k ředění jsem použila 1 ml aqy pro iniectione. Reakční pufr, Faktor diluent, Cleaning solution a Wash-R Emulsion jsou komerčně vyrobené k přímému použití. Po naředění jsem reagensie promíchala jemnými krouživými pohyby a inkubovala cca 30 minut při laboratorní teplotě.

Vzorky jsem nejdříve centrifugovala po dobu 15 minut při 2500g. Po centrifugaci jsem zkontrolovala kvalitu vzorků, abych mohla vyloučit silně hemolytické a chylózní vzorky. Zkumavky jsem do analyzátoru umístila tak, aby čárový kód na zkumavce směřoval

na čtečku v analyzátoru. Na dotykové obrazovce analyzátoru jsem měření aktivovala ikonou „Start“. Analyzátor si „přečetl“ požadavky z LIS a po provedení analýzy se výsledky převedly zpět do informačního systému, kde jsou uchovávány.

### **3.3.3 Postanalytická fáze**

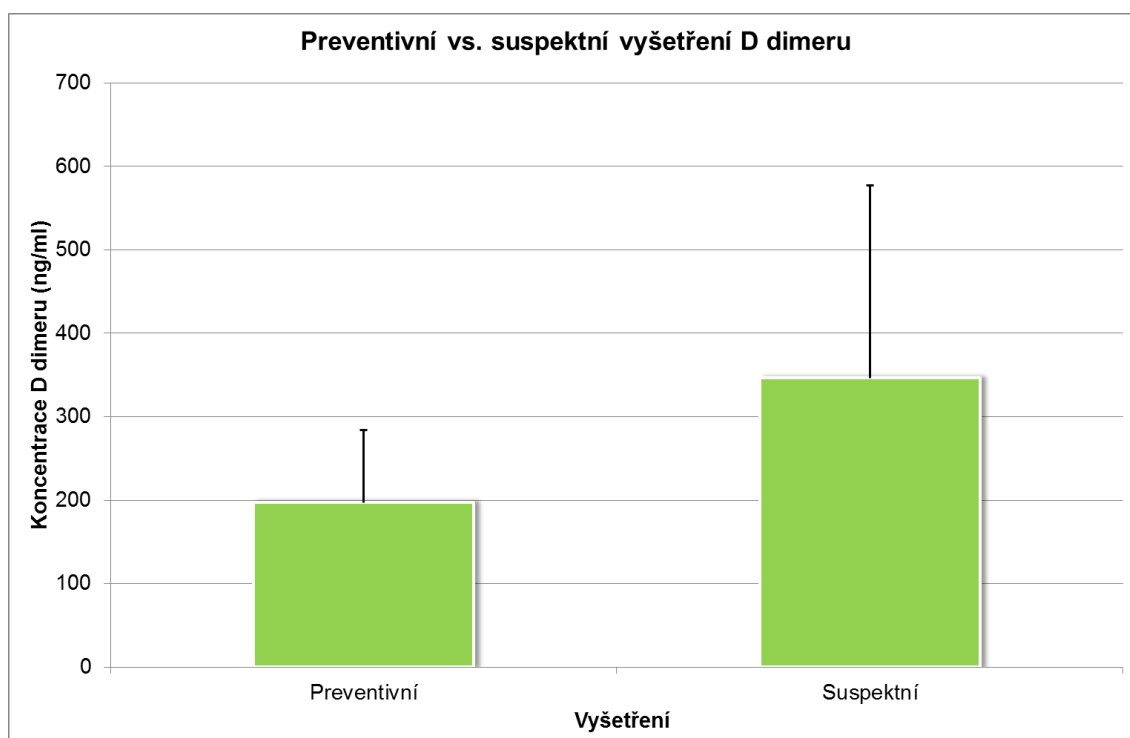
Po změření vzorků a přenosu výsledků z analyzátoru do LIS jsem provedla jejich kontrolu a uvolnila je prostřednictvím programu na jednotlivá oddělení nemocnice. Výsledky, u kterých došlo k významnému vychýlení nebo hodnota překročila 1000 ng/ml jsem telefonicky nahlásila odpovědnému pracovníkovi na příslušné oddělení a informaci zapsala do laboratorního informačního systému. Výsledky se na oddělení dodávají z hematologické laboratoře také v tištěné formě. Výsledky vyšetření jsou na oddělení hematologie archivovány elektronicky v LISu a v tištěné formě pod názvem Hlavní kniha výsledků. Po skončení měření jsem vzorky uložila do stojánku označeného aktuálním datem. Takto uložené vzorky se skladují 24 hodin při laboratorní teplotě a poté se likvidují podle pravidel o odpadu biologického materiálu.

## 4 VÝSLEDKY

### 4.1 Porovnání hodnot preventivního a suspektního vyšetření D-dimerů

Ze zdrojového datového souboru č.1 jsem vyčlenila pacienty do 50 let věku z hematologické ambulance, kterým byl D-dimer naordinován lékařem z důvodu preventivního vyšetření a pacienty z interní ambulance se suspektním podezřením na žilní trombózu. Data jsem zpracovala do datového souboru č. 2 a vytvořila graf č.1. Oba soubory jsou sestaveny z nemodifikované hodnoty cut-off, neboť jsem zpracovala hodnoty D-dimerů od pacientů do 50 let věku. Graf znázorňuje rozdíl mezi suspektním a preventivním vyšetřením D-dimerů.

**Graf č. 1:** Preventivní vs. suspektní vyšetření D-dimeru

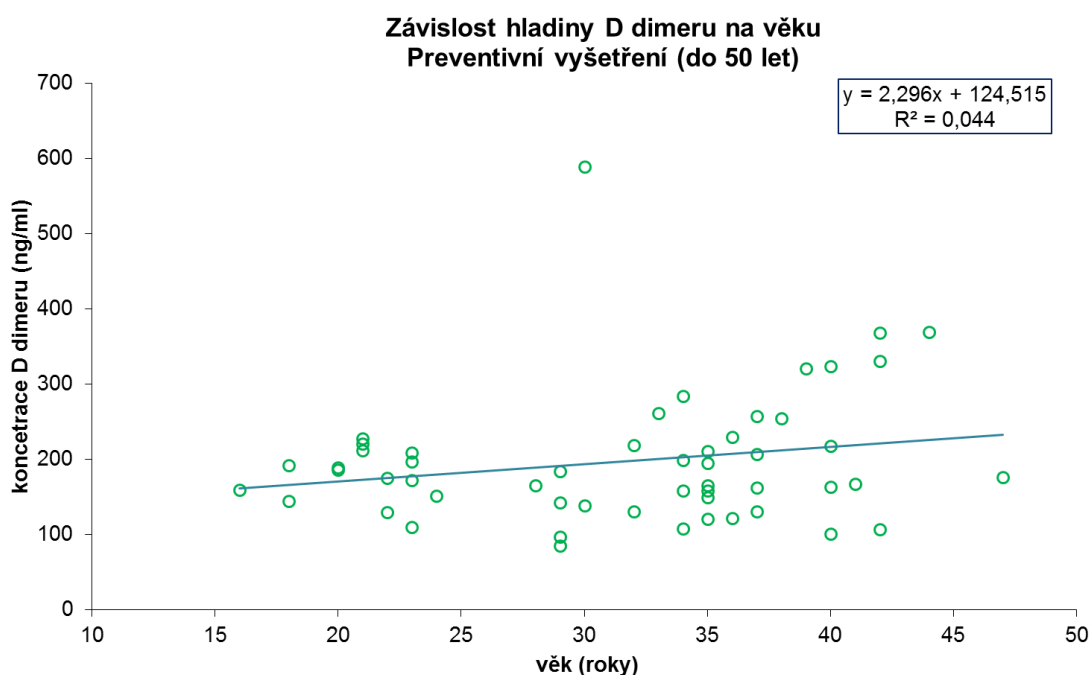


Graf obsahuje průměrné hodnoty D-dimerů z preventivního vyšetření pacientů z hematologické ambulance a z interní ambulance s podezřením na žilní trombózu. Chybové úsečky odpovídají směrodatným odchylkám. Výsledky vyšetření korelují s indikací vyšetření D-dimerů.

**Tabulka A:** Průměrné hodnoty koncentrací D-dimerů souborů preventivních a suspektních vyšetření

	Koncentrace D-dimeru (ng/ml)
Preventivní vyšetření	<b>197.15</b>
Suspektní vyšetření	<b>346.27</b>

**Graf č.2 :** Závislost hladiny D-dimeru na věku u kontrolního souboru pacientů



Graf ukazuje závislost hladiny D-dimeru na věku pacienta u kontrolního souboru pacientů s ordinovaným preventivním vyšetřením D-dimerů.

**Tabulka B (statistický test ANOVA):** Výpočet dosažené hladiny významnosti kontrolního souboru pacientů

	SS	DF	MS	F	Dosažená hladina významnosti
Regrese	17043	1	17043,3	2,332	
Rezidua	372747	51	7308,8		0,133
Celkem	389791	52			

**Tabulka B** obsahuje data kontrolního souboru pacientů s ordinovaným preventivním vyšetřením D-dimerů zpracovaná statistickým testem ANOVA za pomoci software MS Office Microsoft Excell.

Dosažená hladina významnosti  $p = 0,133$  u kontrolního souboru pacientů do 50 let věku v rámci preventivního vyšetření ukazuje, že hladina D-dimerů se zde nezvyšuje.

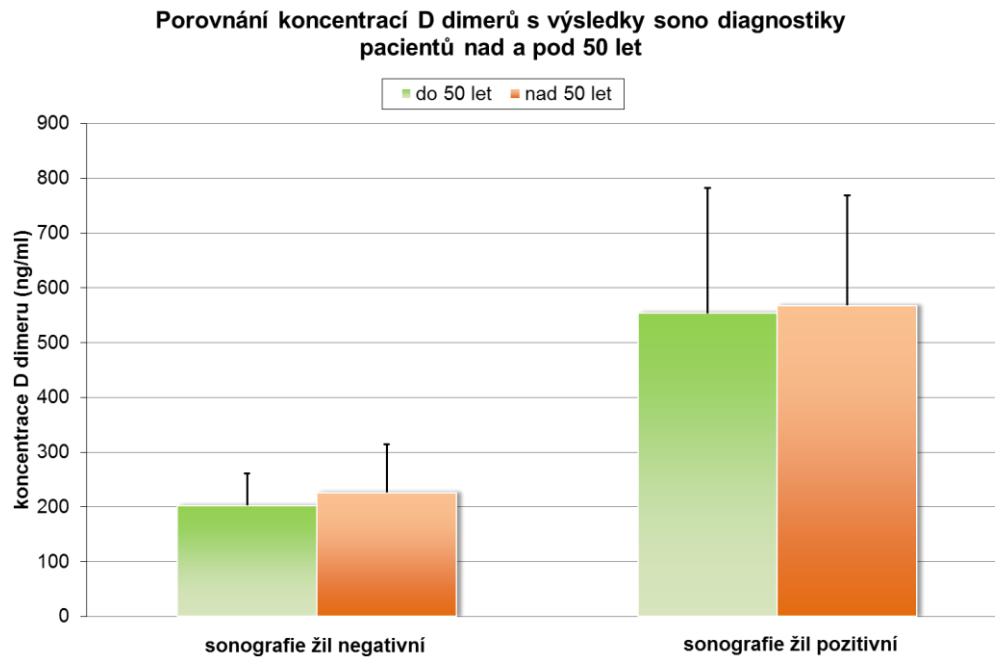
U kontrolního souboru pacientů do 50 let věku v rámci preventivního vyšetření se hypotéza o s věkem se zvyšující hladině koncentrace D-dimerů podle očekávání nepotvrdila. Tento výsledek je v souladu i s dostupnými, zahraničními studii (8 Seznam použité literatury, 8),9), )

#### **4.2 Porovnání hodnot D-dimerů s výsledky ultrasonografického vyšetření žil**

Informativně jsem dala do souvislosti koncentrace D-dimerů s výsledky ultrasonografického vyšetření. Ze svého zdrojového datového souboru č.1 (kapitola 10. Přílohy) jsem vybrala hodnoty D-dimerů podle věku pacientů u kterých byla diagnóza DVT vyloučena a hodnoty pacientů u kterých byla diagnóza potvrzena. Také zde jsem ze svých naměřených hodnot nejprve vytvořila datový soubor č. 3. (kapitola 10. Přílohy) do kterého jsem seřadila pacienty podle vzrůstajícího věku. Dále soubor obsahuje čísla diagnóz, pohlaví, koncentrace D-dimerů, cut-off hodnoty (modifikované) a výsledky sonografických vyšetření. Z těchto dat jsem vypočítala průměrné hodnoty koncentrace D-dimerů u skupiny pacientů do 50 let věku s negativním výsledkem D-dimeru (hladina koncentrace D-dimeru je nižší než cut-off 250 ng/ml ) a zároveň totéž pro skupinu pacientů nad 50 let věku. Obdobně jsem vytvořila další dvě skupiny pacientů do a nad 50 let věku s pozitivním výsledkem stanovení hladiny koncentrace D-dimeru (hladina koncentrace D-dimeru je vyšší než cut-off 250 ng/ml). Zároveň jsem také všechny pacienty v rámci obou věkových skupin setřídila podle výsledku ultrasonografie.



**Graf č. 3: Porovnání koncentrací D-dimerů s výsledky sono diagnostiky pacientů nad a pod 50 let**



Graf názorně ukazuje, že pacienti s negativním výsledkem sonografického vyšetření měli vždy také negativní výsledek D-dimerů napříč věkovými skupinami a stejně tomu tak bylo i pro pacienty s pozitivní ultrasonografií. U všech pacientů se ukázala naprostá shoda mezi výsledkem ultrasonografického vyšetření a naměřenou hladinou koncentrace D-dimerů. Navíc je z grafu patrné, že v rámci jednotlivých skupin pacientů s negativní i pozitivní ultrasonografií vykazuje skupina pacientů nad 50 let věku vždy vyšší průměrnou hladinu koncentrace D-dimerů než skupina pacientů do 50 let věku. Chybové úsečky v grafu ukazují, že pozitivní výsledky D-dimerů mají vysokou variabilitu.

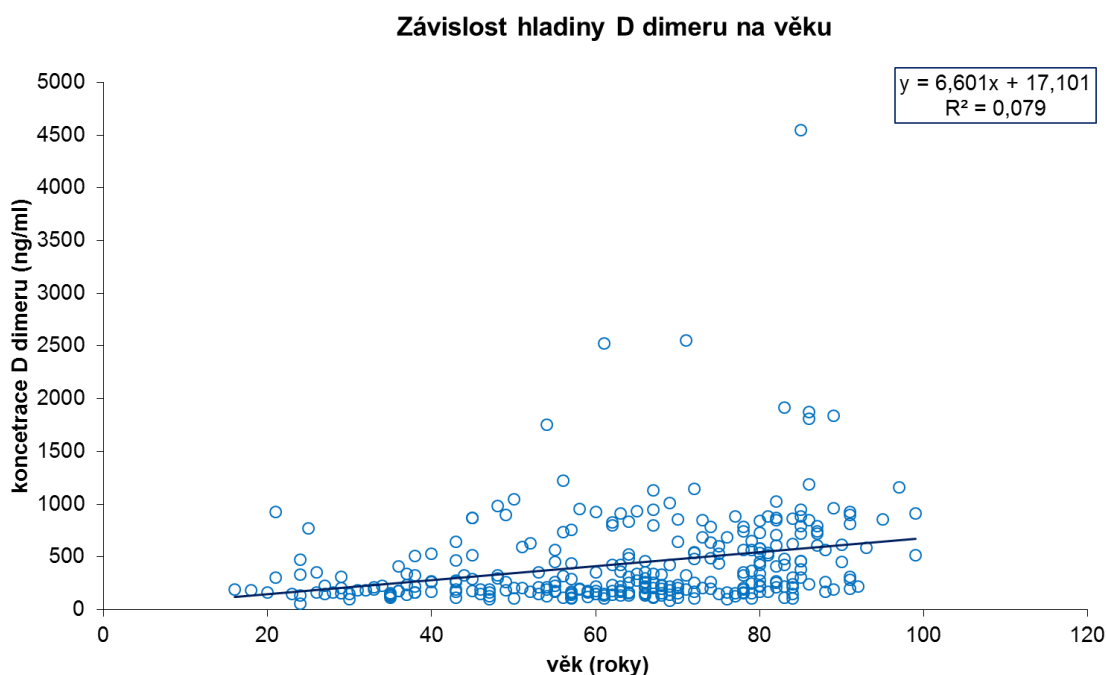
Údaje zobrazené v grafu jsou pouze informativního charakteru a podrobnější analýza korelace hladiny koncentrace D-dimerů s ultrasonografickým vyšetřením by byla námětem pro samostatnou studii.

### **4.3 Výpočet hodnoty cut-off v závislosti na věku pacienta**

Dalším cílem mé práce bylo ověření závislosti hodnoty D-dimerů na věku pacientů. Ze získaného souboru hodnot D-dimerů a informací o pacientech jsem nejdříve sestavila datový soubor č.5 viz část Přílohy, obsahující rok narození pacienta, věk, pohlaví, číslo diagnózy, koncentraci D-dimerů a odpovídající hodnotu cut-off. U pacientů do 50 let jsem uvedla

standardní hodnotu cut-off používanou v naší laboratoři podle doporučení výrobce setu HemosIL™ Controls – 250 ng/ml. U pacientů nad 50 let jsem hodnotu vypočítala podle studií uvedených v odborných časopisech Haematologica-The Hematology Journal 2012 a Jurnal Thrombo Hemost 2012. Oba časopisy uváděly výpočet hodnoty cut-off u pacientů nad 50 let vzorcem: **věk pacienta x 10 mg/l FEU**. Po zpracování datového souboru jsem vytvořila graf č. 2: Závislost hladiny D – dimeru na věku pacienta.

**Graf č. 4:** Závislost hladiny D – dimeru na věku pacienta



Na grafu č. 4 je znázorněna závislost koncentrace D-dimeru na věku pacientů. Vyšetření bylo provedeno u pacientů ve všech věkových kategoriích.

Tabulka C (statistický test ANOVA): Výpočet dosažené hladiny významnosti souboru pacientů všech věkových kategoriích

	<i>SS</i>	<i>DF</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Dosažená hladina významnosti</i>
Regrese	4621340	1	4621340	25,4	
Rezidua	54177036	298	181802,1		<0,001
Celkem	58798376	299			

**Tabulka C** obsahuje výpočet hladiny významnosti pro závislost koncentrace D-dimeru na věku pacientů. Vyšetření bylo provedeno u pacientů ve všech věkových kategoriích a zpracováno statistickým testem ANOVA za pomoci software MS Office Microsoft Excell.

Dosažená hladina významnosti  $p < 0,001$  potvrzuje hypotézu, že hladina koncentrace D-dimeru s věkem stoupá.

#### 4.4 Výpočet a ověření hodnoty cut-off používané v hematologické laboratoři

Díky kombinaci méně specifického vyšetření D-dimerů a specifického vyšetření UTZ (ultrazvukem) v diagnostice žilní trombózy a plicní embolie, bylo možné z nasbíraných dat určit specificitu a senzitivitu metody vyšetření D-dimerů, stejně jako optimalizovat hodnotu cut – off. Specificitu jsem vypočítala jakožto počet negativních výsledků zdravých jedinců dělený celkovým počtem testovaných osob a senzitivitu jako počet pozitivních výsledků nemocných osob dělený celkovým počtem testovaných osob. Údaje k těmto výpočtům jsem uložila do datového souboru č.4, který je uveden v části 10. Přílohy.

**Tabulka D:** Vztah mezi výsledky měření koncentrací D-dimerů a sonografického vyšetření: sono +(-) udává počty vzorků pozitivních (negativních) v sonografickém vyšetření D-dimery +(-) jsou počty vzorků pozitivních (negativních) ve vyšetření koncentrací D-dimerů.

	sono +	sono -
D – dimer +	29	9
D – dimer -	2	28

Výpočet specificity

$$\text{specificita} = \frac{28}{28+9} = 0,756757$$

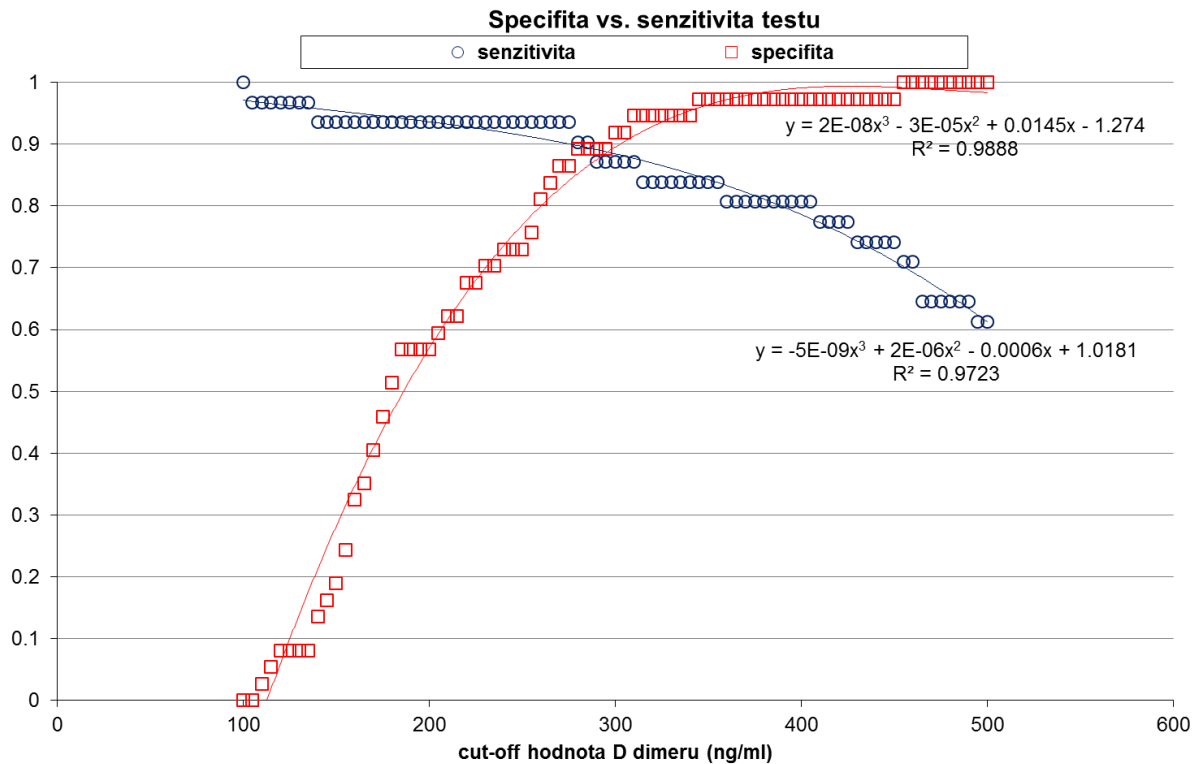
Výpočet senzitivity

$$\text{senzitivita} = \frac{29}{29+2} = 0,935484$$

Zpracovávaná data byla také použita k optimalizaci hodnoty cut – off pro laboratoř OHKT Nemocnice Jindřichův Hradec, a.s. Cut–off, nebo-li diskriminační hodnota je určena na základě poměru senzitivity a specificity testu. Ideální laboratorní metoda by měla

senzitivitu i specificku rovnou 1. Optimální hodnotu cut – off jsem zjistila vynesím jako průsečík křivky specificku a senzitivity v grafu č. 5.

Graf č. 5: Specificku vs senzitivita testu



Výpočty byly provedeny na kompletním souboru všech pacientů ve všech věkových kategoriích a zpracovány polynomickou regresí za pomoci software MS Office Microsoft Excell.

Hledaná optimální hodnota cut-off 288 ng/ml se nachází v místě průsečíku obou charakteristik metody a tento cut-off poskytuje maximální možnou specificku při nejvyšší možné senzitivě pro daný soubor pacientů. Hodnota cut – off používaná momentálně v naší laboratoři byla modifikována na základě této studie a dále se na této problematice pracuje.

## 5 DISKUZE

První hypotéza **„Předpoklad rozdílných hodnot koncentrací D-dimerů v souborech preventivního a suspektního vyšetření“** je zpracována v kapitole 4.1. Analýza kontrolního souboru pacientů v rámci preventivního vyšetření ukázala, že hodnoty D-dimerů se stoupajícím věkem (do 50 let věku pacienta) zůstávají stabilní a změny jsou statisticky nevýznamné (viz Kapitola 4.1 Tabulka B. Statistický test ANOVA a graf č.2). U kontrolního souboru pacientů do 50 let věku v rámci preventivního vyšetření se hypotéza o s věkem se zvyšující hladině koncentrace D-dimerů podle očekávání nepotvrdila. Tento výsledek je v souladu i s dostupnými, zahraničními studii (8 Seznam použité literatury, 8),9). Soubor suspektních pacientů vykazuje statisticky významné zvýšení průměrných hodnot D-dimerů v této skupině (viz Kapitola 4.1 graf č.1 a Tabulka A).

Porovnáním obou souborů (viz Kapitola 4.1 graf č.1 a Tabulka A) je vzhledem k signifikantnímu rozdílu průměrných hodnot koncentrace D-dimerů možné hypotézu **„Předpoklad rozdílných hodnot koncentrací D-dimerů v souborech preventivního a suspektního vyšetření“** jednoznačně potvrdit.

Druhá hypotéza **„Předpoklad positivity testu D-dimeru při diagnostikované hluboké žilní tromboze pomocí ultrasonografie“** je zpracována v kapitole 4.2. U všech pacientů se ukázala naprostá shoda mezi výsledkem ultrasonografického vyšetření a naměřenou hladinou koncentrace D-dimerů. Navíc je patrné, že v rámci jednotlivých skupin pacientů s negativní i pozitivní ultrasonografií vykazuje skupina pacientů nad 50 let věku vždy vyšší průměrnou hladinu koncentrace D-dimerů než skupina pacientů do 50 let věku. Podrobnější analýza této problematiky by vyžadovala větší a statisticky významnější soubor pacientů s výsledky ultrasonografického vyšetření (použitý soubor obsahoval 51 pacientů) a byla by pak námětem pro samostatnou studii.

Na souboru pacientů použitým v této studii se hypotéza **„Předpoklad positivity testu D-dimeru při diagnostikované hluboké žilní tromboze pomocí ultrasonografie“** potvrdila.

Třetí hypotéza **„Předpoklad zvýšení hodnot koncentrace D-dimeru v závislosti na stoupajícím věku pacienta (u pacientů nad 50 let) a zavedení věkem modifikovaného cut-off pro vyloučení falešně pozitivních výsledků u pacientů se suspektní diagnózou DVT nebo PE“** je zpracována v kapitole 4.3 a 4.4. Veškerá data získaná analýzou datového souboru 300 pacientů Nemocnice Jindřichův Hradec a.s. korespondují se zahraničními

studiemi na toto téma, konkrétně HAEMATOLOGICA – THE HEMATOLOGY JOURNAL. October 2012 97: 1507-1513 a JURNAL THROMBO HEMOST 2012 Jul;10(7):1291-6. Naměřené hodnoty odpovídají předpokladům a dosažená hladina významnosti  $p < 0,001$  potvrzuje hypotézu, že hladina koncentrace D-dimeru s věkem stoupá.

Dalším bodem bylo nalezení a zavedení věkem modifikovaného cut-off pro vyloučení falešných pozitivit u pacientů se suspektní diagnózou DVT a PE. Nalezená optimální hodnota cut-off poskytuje maximální možnou specificitu při nejvyšší možné senzitivě metody. Přestože se ve všech laboratořích rutinně používá stále jeden fixní cut-off pro všechny pacienty napříč věkovými kategoriemi, studie ukazuje (v souladu s ostatními, dostupnými zahraničními prameny viz výše), že klinicky přínosnější je použití fixního cut-off pro pacienty do 50 let věku (hladina koncentrace D-dimeru se s věkem nezvyšuje viz kapitola 4.1) a zavedení proměnného, věkem modifikovaného cut-off pro pacienty starší 50 let (průměrné hodnoty koncentrace D-dimeru se s věkem zvyšují viz kapitola 4.3).

Prvním krokem a pozitivním výsledkem studie, zavedeným do rutinní praxe v naší laboratoři, je změna prezentace výsledků hladiny koncentrace D-dimerů klinickým pracovištím s důrazem na věk pacienta a na s věkem se zvyšující, bazální hladinu koncentrace D-dimeru. Hodnota cut – off používaná momentálně v naší laboratoři byla modifikována na základě této studie na 285 ng/ml pro pacienty nad 50 let věku a dále se na této problematice pracuje.

## 6 ZÁVĚR

Jedním z cílů mé bakalářské práce bylo hodnocení a porovnání naměřených hodnot D-dimerů u pacientů rozdílného věku s podezřením na žilní trombózu s výsledky jejich ultrasonografického vyšetření cév. Při této studii se mi potvrdila jednak vysoká senzitivita testu D-dimeru při stanovování diagnózy žilní trombózy a jednak nutnost používat proměnnou hodnotu cut-off D-dimeru u pacientů nad 50 let k vyloučení falešně pozitivních výsledků. K tomuto tématu mi byly inspirací dvě nezávislé studie prováděné na velkých souborech pacientů uveřejněné v odborných časopisech Haematologica-The Hematology Journal a Jurnal Thrombo Hemost v roce 2012. Obě studie se zabývaly problematikou proměnné hodnoty cut-off D-dimeru u pacientů nad 50 let. Výsledky mé práce se shodují se závěry obou studií.

V souvislosti s výše uvedeným cílem mé práce jsem na souboru obsahující 300 pacientů rozdílného věku s naměřenými hodnotami D-dimeru prokázala, že koncentrace D-dimeru s rostoucím věkem stoupá.

Zpracovávaná data jsem použila k ověření správnosti používané optimální hodnoty D-dimeru hematologickou laboratoří v Nemocnici Jindřichův Hradec a.s. Zároveň jsme zavedli změnu interpretace výsledků D-dimerů vůči klinickým pracovištím a u pacientů nad 50 let věku kliniky upozorňujeme na s věkem se zvyšující hladinu koncentrace D-dimerů.

Teoretické i praktické poznatky této práce ukazují závažnost trombofilií, jejich častý výskyt a náročnost jejich diagnózy i léčby. Díky intenzivnímu výzkumu a rychlému uvádění poznatků do praxe se daří v rámci preventivního vyhledávání osob s podezřením na trombofilii snižovat rizika spojené s touto diagnózou. Také současná rychlá a přesná fibrinolytická i koagulační vyšetření dávají možnost včasné diagnózy a tím větší šanci pro zahájení účinné léčby, která zlepšuje dlouhodobé přežívání vybraných skupin nemocných s cévními trombotickými projevy.

## 7 SEZNAM V PRÁCI POUŽITÝCH ZKRATEK

aPTT – aktivovaný parciální tromboplastinový čas

DIC – diseminovaná intravaskulární koagulace

DVT ( Deep Vein Thrombosis) – hluboká žilní trombóza

FDP - fibrinogen a fibrin degradační produkty

FEU – fibrinogen ekvivalentní jednotky

Glu-Lys – kyselina glutamová – lysin

ICOPER (International Cooperative Pulmonary Embolism Registry) - Mezinárodní společnost registru plicní embolie

LIS – laboratorní informační systém

LMWH ( low molecular weight heparin) - nízkomolekulární heparin

OHKT - oddělení hematologie a krevní transfúze

PE – plicní embolie



## 8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ČERTÍK, B. *Akutní končetinová ischemie*. Praha: Grada Publishing, 2003, 147 s. ISBN 80-247-0624-5.
2. DASTYCH, M. et al. *Klinická biochemie: bakalářský obor Zdravotní laborant*. Brno: Masarykova univerzita, 2008, 232 s. ISBN 978-80-210-4572-9.
3. FAKAN, F. *Přehled patologie pro bakalářské zdravotnické obory.* Praha: Karolinum, 2005, 112 s. ISBN 80-246-1054-X.
4. FRANCHINI, M., LIPPI, G. *Fibrinogen replacement therapy: a critical review of the literature*. Blood Transfus, 2012, vol. 10, no. 1, p. 23–27.
5. GUPTA, R. T. et al. D-Dimers and Efficacy of Clinical Risk Estimation Algorithms: Sensitivity in Evaluation of Acute Pulmonary Embolism. *American Journal of Roentgenology*, 2009, vol. 193, no. 2, s. 425-43.
6. CHROMÝ, V. et al. *Bioanalytika: analytická chemie v laboratorní medicíně*. Brno: Masarykova univerzita, 2002, 267 s. ISBN 80-210-2917-X.
7. HAEMATOLOGICA-THE HEMATOLOGY JOURNAL 97(10): Douma, Renee A.; Tan, Melanie; Schutgens, Roger E. G.; et al. Using an age-dependent D-dimer cut-off value increases the number of older patients in whom deep vein thrombosis can be safely excluded 1507-1513, 2012. doi:10.3324/haematol.2011.060657
8. JURNAL THROMBO HEMOST 2012 Jul;10(7): Penalzoza, A., Roy, P. -M., Kline, J., Verschuren, F., Le Gal, G., Quentin-Georget, S. , Delvau, N. , Thys, F. Performance of age-adjusted D-dimer cut-off to rule out pulmonary embolism. 1291-6.doi:10.1111/j.1538-7836.2012. ISSN 04769.x.
9. KARGES, W. et al. *Vnitřní lékařství*. Grada Publishing, 2011, 426 s. ISBN 8024731088.
10. KUBISZ, P. et al. *Hematológia a transfuziológia*. Praha: Grada Publishing 2006, 323 s. ISBN 80-8090-000-0.

11. KVASNIČKA, J. *Trombofilie a trombotické stavy v klinické praxi*. Praha: Grada Publishing, 2003, 299 s. ISBN 80-7169 - 993- 4.
12. LITZMAN, J. et al. *Základy vyšetření v klinické imunologii*. Brno: Masarykova Univerzita, 2007, 59 s. ISBN 978-80-210-4227-8.
13. MAČÁK, J. et al. *Patologie*. 2. vydání. Praha: Grada Publishing, 2012, 347 s. ISBN 978-80-247-3530-6.
14. MALÝ, J. et al. *Trendy v profylaxi žilní tromboembolické nemoci*. 2. vydání. Praha: Mladá fronta a.s., 2013, 213 s. ISBN 978-80-204-2878-3.
15. MATÝŠKOVÁ, M. et al. *Hematologie pro zdravotní laboranty 2. díl : Krevní srážení*. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví v Brně, 1999, 203 s. ISBN 80-7013-278-7.
16. PECKA, M. *Laboratorní hematologie v přehledu III.: Fyziologie a patofyziologie hemostázy*. Český Těšín: FINIDR s.r.o., 2004, 238 s. ISBN 80-86682-03-X.
17. PECKA, M. et al. *Praktická hematologie*. Český Těšín: Nakladatelství Infiniti art, s. r.o., 2010, 343 s. ISBN 978-80-903871-9-5.
18. PENKA, M. et al. *Hematologie I*. Praha: Grada Publishing, 2001, 214 s. ISBN 80-247-0023-9.
19. PENKA, M. et al. *Diseminovaná intravaskulární koagulace (DIC)*. Praha: Grada Publishing, 2003, 231 s. ISBN 80-247-0341-6.
20. PENKA, M. et al. *Neonkologická hematologie*. 2. vydání. Praha: Grada Publishing, 2009, 420 s. ISBN 8024722992.
21. PENKA, M. et al. *Hematologie a transfuzní lékařství I: Hematologie*. Praha: Grada Publishing, 2011, 421 s. ISBN 978-80-247-3459-0.

22. PLEBANI, M. et al. Quality control in coagulation testing. *Semin Thromb Hemost*, 2008, vol. 34, no. 7, p. 642–646.
23. POHANKA, M. *Biosenzory pro stanovení chemických a biologických agens: studijní pomůcka*. Hradec Králové: Univerzita obrany, 2009, 56 s. ISBN 978-80-7231-336-5.
24. RACEK, J. et al. *Klinická biochemie*. 2. vydání. Praha: Galén, 2006, 329 s. ISBN 80-7262-324-9.
25. SEDLÁČEK, P. *Jak se vyznat v laboratorních hodnotách: Jak správně rozumět laboratorním výsledkům?, Jaké jsou normální hodnoty?, Co znamenají odchylky?* Praha: Eminent, 2006, 145 s. ISBN 80-7281-256-4.
26. SEMERÁKOVÁ, H. *D-dimer*, Jindřichův Hradec: Oddělení hematologie a krevní transfúze, 2011, 6 s.
27. SKALICKÁ, H. et al. *Předoperační vyšetření: návody pro praxi*. Praha: Grada, 2007, 149 s. ISBN 978-80-247-1079-2.
28. SOVOVÁ, E., ŘEHOŘOVÁ, J. *Kardiologie pro obor ošetrovatelství*. Praha: Grada Publishing, 2004, 156 s. ISBN 80-247-1009-9.
29. STEFFEN, H.M. et al. *Diferenciální diagnostika ve vnitřním lékařství*. Praha: Grada Publishing, 2010, 391 s. ISBN 978-80-247-2780-6.
30. VOJÁČEK, J. et al. *Arteriální a žilní trombóza v klinické praxi*. Praha: Grada Publishing, 2004, 276 s. ISBN 80-247-050-X.
31. VOKURKA, M., Hugo, J. et al. *Praktický slovník medicíny*. 8. vydání. Praha: Maxdorf, 2007, 518 s. ISBN 978-80-7345-123-3.
32. WILSON, D. B., GARD, K. M. Evaluation of an Automated, Latex-Enhanced Turbidimetric D-Dimer Test (Advanced D-Dimer) and Usefulness in the Exclusion of Acute Thromboembolic Disease. *American Journal of Clinical Pathology*. 2003, vol. 120, p. 930-937. ISSN 0002-9173.

## **9 KLÍČOVÁ SLOVA**

D-dimer

Trombofilie

Žilní trombóza

Plicní embolie

Ultrasonografie

Hodnota cut-off

## **KEY WORDS**

D-dimer

Thrombophilia

Venous thrombosis

Pulmonary embolism

Ultrasonography

Cut-off D-dimer

## 10 PŘÍLOHY

Číslo vzorku	Rok narození	Pohlaví	Diagnóza	Koncentrace d - dímeru ng/ml	Výsledek při limitu L (viz hodnota J17)	SONO	
1	1976	M	I803	142.9	N	V	NV
2	1975	F	D689	163	N		N
3	1937	M	D689	166.5	N		N
4	1987	F	R298	192.2	N		N
5	1921	M	I802	219	N		NV
6	1978	F	N979	130.9	N	V	N
7	1981	F	J039	181.2	N		N
8	1977	F	R70	175.5	N		N
9	1932	M	I480	514	P		N
10	1953	F	R074	148.9	N		P
11	1936	M	R0606	125.8	N		N
12	1949	F	I260	838.6	P		P
13	1918	F	E86	859.2	P		P
14	1935	F	I259	208.4	N		N
15	1982	F	I802	928.5	P	P	PP
16	1943	F	R060	208.4	N		N
17	1947	M	I10	155.8	N		N
18	1946	M	I802	202.5	N	V	NV
19	1933	M	I702	580.8	P		P
20	1959	F	R074	210.3	N		N
21	1932	F	J189	540	P		P
22	1965	M	I269	984.6	P		P
23	1951	M	I480	424.9	P		P
24	1975	F	O820	223.3	N		N
25	1949	F	I802	312.4	P	P	PP
26	1934	F	I802	157.1	N	V	NV
27	1959	F	N119	1754.4	P		P
28	1955	F	R55	190.5	N		N
29	1967	F	I802	150.5	N	V	NV
30	1922	F	R060	313.2	P		P
31	1975	F	D689	323.6	P		P
32	1952	M	J960	2526	P		P
33	1977	F	R074	174.5	N		N
34	1961	F	R060	168.8	N		N
35	1951	F	E042	176.7	N		N
36	1975	M	R074	166	N		N
37	1935	M	E100	566.8	P		P
38	1941	M	R060	252	N		N
39	1953	M	R074	220.4	N		N
40	1984	F	R074	310.7	P		P
41	1944	F	R074	87.6	N		N
42	1989	M	R060	131.8	N		N
43	1926	F	I501	743.6	P		P
44	1922	F	R55	925.9	P		P
45	1922	F	R55	897.3	P		P
46	1963	F	D689	107.1	N		N
47	1970	F	E042	169.9	N		N
48	1925	F	R55	173	N		N
49	1945	M	I110	153.6	N		N
50	1946	M	R074	948.2	P		P
51	1957	M	K850	1226.2	P		P
52	1987	F	R769	165	N		N
53	1951	F	I802	802.5	P	P	PP
54	1951	F	I702	235.7	N		N
55	1926	F	R074	794.8	P		P
56	1950	F	Z955	912.6	P		P
57	1989	F	D689	474	P		P
58	1952	M	I64	151.2	N		N
59	1968	M	J180	868.8	P		P
60	1930	F	R060	223.4	N		N
61	1959	F	I480	190	N		N
62	1935	M	I200	163.3	N		N
63	1983	M	R074	148.5	N		N
64	1942	F	R55	323.3	P		P
65	1946	F	R060	799.3	P		P
66	1980	F	R103	214.4	N		N
67	1965	F	R42	326.2	P		P
68	1956	M	R060	153.8	N		N
69	1949	M	R074	133	N		N
70	1959	F	M5469	129.9	N		N
71	1970	M	I802	645.9	P	P	PP
72	1928	M	I211	4544.9	P		P
73	1946	M	R509	1128.6	P		P
74	1925	M	I250	265	P		P
75	1932	F	R002	168.3	N		N
76	1939	F	R074	201.5	N		N
77	1944	F	R074	185.9	N		N
78	1957	F	N189	739.6	P		P
79	1958	M	I803	180.8	N	V	NV
80	1990	F	I10	147.9	N		N
81	1941	F	I802	167.3	N	V	NV
82	1962	F	I10	202.4	N		N
83	1978	F	R55	154.9	N		N
84	1934	M	E119	563.8	P		P
85	1958	M	K921	565.3	P		P
86	1926	F	R42	719.2	P		P
87	1939	F	I259	492.2	P		P
88	1964	F	J209	182.5	N		N
89	1976	F	I509	338.2	P		P
90	1927	M	I259	846.5	P		P
91	1957	F	R074	114.6	N		N
92	1956	F	K801	115.8	N		N
93	1966	M	N189	130.3	N		N
94	1966	M	D689	97.2	N		N
95	1950	F	R074	138	N		N
96	1927	F	R55	241.9	N		N
97	1924	M	R060	192.2	N		N
98	1947	F	I269	138.4	N		N
99	1929	F	R002	108.2	N		N
100	1985	F	R074	161.8	N		N

	sono+	sono-
d-dimer+	29	9
d-dimer-	2	28

Senzitivita testu = pozitivni vysledky testu u pacientu s potvrzenou diagnózou  
 Senzitivita dle výše uvedené tabulky  
 Senz = 0.935484

Specifita testu = negativni vysledky testu  
 dělené součtem počtu negativních a falešně pozitivních, tj.  
 Spec. = 0.756757

Limit pro 255

Vypočítat pro různé hodnoty L od 100 do 500  
 a vynesť do grafu senzitivitu a specifitu v závislosti na L

101	1939	F	R060	786.9		P		P
102	1928	F	D391	948.8		P		P
103	1984	F	M5499	206.5		N		N
104	1927	F	S7210	1189.9		P		P
105	1948	F	M9408	276.4		P		P
106	1926	M	E86	612.1		P		P
107	1933	F	I802	541.7		P	P	PP
108	1932	M	I480	885.9		P		P
109	1978	F	I803	138.8		N	P	NP
110	1939	F	I509	634.6		P		P
111	1986	F	Z017	226.1		N		N
112	1989	F	R060	60.1		N		N
113	1937	M	I803	101		N	P	NP
114	1945	M	C349	235.7		N		N
115	1914	F	I10	518.3		P		P
116	1988	F	R074	769.5		P		P
117	1970	F	I802	277.1		P	P	PP
118	1980	F	D689	194.8		N		N
119	1960	F	R060	150.9		N		N
120	1970	F	I802	116.4		N	V	NV
121	1964	F	I10	899		P		P
122	1992	F	S0600	307.9		P		P
123	1943	F	I259	641		P		P
124	1935	F	N180	741.2		P		P
125	1938	F	I10	151.8		N		N
126	1934	F	I803	107.4		N	V	NV
127	1954	M	I803	166		N	V	NV
128	1950	M	I802	183.7		N	V	NV
129	1928	F	A46	384.2		P		P
130	1933	M	I803	426.7		P	P	PP
131	1986	F	R074	150.1		N		N
132	1929	F	I480	151.2		N		N
133	1923	M	K567	615.1		P		P
134	1983	M	R074	96.8		N		N
135	1956	M	I802	145.8		N	V	NV
136	1941	F	I509	485		P		P
137	1953	M	J450	148.8		N		N
138	1935	M	I480	783.8		P		P
139	1995	F	D689	186.2		N		N
140	1946	M	M5499	114.2		N		N
141	1962	M	R55	592.8		P		P
142	1947	M	R55	149.6		N		N
143	1953	F	I802	174.7		N	C	NC
144	1934	M	I803	651		P	P	PP
145	1922	M	R074	197.8		N		N
146	1973	F	I800	531.8		P	P	PP
147	1929	F	I200	307.1		P		P
148	1955	M	R074	953.8		P		P
149	1942	F	M7966	189.4		N		N
150	1967	M	R074	191.7		N		N
151	1984	M	R074	159.7		N		N
152	1933	M	I539	219.7		N		N
153	1952	F	R074	103.6		N		N
154	1946	M	R060	337.6		P		P
155	1923	F	J069	452.7		P		P
156	1933	M	R074	729.4		P		P
157	1933	F	I480	579.9		P		P
158	1930	F	I10	424		P		P
159	1965	M	I802	297.3		P	V	PV
160	1922	M	I200	812		P		P
161	1954	M	I500	122.4		N		N
162	1938	F	R104	439.7		P		P
163	1920	F	R074	588		P		P
164	1943	F	I479	117.3		N		N
165	1922	F	R55	282.4		P		P
166	1931	M	R060	848		P		P
167	1943	F	J449	236.8		N		N
168	1989	F	J189	330.9		P		P
169	1943	M	I480	153		N		N
170	1929	F	R060	865.7		P		P
171	1956	F	I802	110.2		N	V	NV
172	1955	F	R060	198.2		N		N
173	1960	M	I802	356.7		P	P	PP
174	1930	M	R060	1920		P		P
175	1954	M	I802	175.4		N	V	NV
176	1940	F	I802	205.7		N	V	NV
177	1963	M	J209	206.8		N		N
178	1956	M	R074	289.9		P		P
179	1935	F	I480	352.9		P		P
180	1936	M	I839	159.8		N	V	NV
181	1944	M	C349	1008.8		P		P
182	1958	F	R074	228.3		N		N
183	1947	M	R074	351.2		P		P
184	1940	M	I500	846.9		P		P
185	1928	M	R55	721.6		P		P
186	1950	M	I200	169.1		N		N
187	1976	M	I802	235.9		N	V	NV
188	1928	M	I509	885.2		P		P
189	1941	M	R060	1146.6		P		P
190	1949	M	J449	166.5		N		N
191	1924	F	J209	961.9		P		P
192	1931	F	R55	414		P		P
193	1928	F	I259	459.9		P		P
194	1949	F	I500	254		N		N
195	1951	F	I802	825		P	P	PP
196	1946	F	I802	254.6		N	V	NV
197	1946	F	R074	122.9		N		N
198	1940	M	R074	689.2		P		P
199	1944	M	I480	426		P		P
200	1933	M	I480	842.2		P		P
201	1945	M	R074	224.2		N		N
202	1931	M	R060	272.6		P		P

203	1970	F	R074	465.8		P		P
204	1960	M	I10	212		N		N
205	1936	M	R509	886.7		P		P
206	1937	F	R060	688.1		P		P
207	1953	M	R074	357.5		P		P
208	1929	M	R060	237.8		N		N
209	1966	F	R060	192.4		N		N
210	1947	F	R074	262.1		P		P
211	1928	F	R060	792.6		P		P
212	1939	M	J449	259.6		P		P
213	1931	F	J189	257.4		P		P
214	1933	M	J449	337.4		P		P
215	1933	F	R060	224.1		N		N
216	1916	F	J189	1160.9		P		P
217	1931	F	R060	210		N		N
218	1949	M	I509	527.3		P		P
219	1979	F	I839	229.6		N	V	NV
220	1952	M	I802	137.4		N	V	NV
221	1964	F	I803	260		P	V	PV
222	1938	F	I803	599.4		P		PP
223	1973	M	I802	173.8		N	V	NV
224	1978	M	R509	115.5		N		N
225	1950	F	R074	216.7		N		N
226	1958	M	I802	173		N	V	NV
227	1977	M	I803	409.1		P	P	PP
228	1948	M	I802	340.9		P	V	PV
229	1953	M	R060	928.8		P		P
230	1944	F	J441	220.5		N		N
231	1956	M	J189	438.5		P		P
232	1933	M	I802	275.9		P	V	PV
233	1973	F	I802	263.1		P	V	PV
234	1973	M	I800	268		P	V	PV
235	1945	M	I480	332.5		P		P
236	1947	F	I800	258.9		P	V	PV
237	1957	M	R074	318.8		P		P
238	1968	F	I802	520		P	P	PP
239	1944	M	I480	143.6		N		N
240	1931	F	I803	707.1		P	P	PP
241	1930	F	R060	117.5		N		N
242	1958	M	R074	265.1		P		P
243	1969	F	J189	329		P		P
244	1929	F	I803	620.1		P	P	PP
245	1968	F	I802	870.9		P		PP
246	1983	F	I802	160		N	V	NV
247	1970	F	R55	259.5		P		P
248	1949	M	R074	155.2		N		N
249	1928	M	I800	306.4		P	V	PV
250	1943	M	R060	857.2		P		P
251	1954	F	R060	169.1		N		N
252	1947	F	I828	460.9		P	P	PP
253	1949	F	I802	490.6		P	P	PP
254	1934	F	R060	369.7		P		P
255	1934	F	J189	249.9		N		N
256	1945	F	R060	199		N		N
257	1963	F	I269	1046.8		P		P
258	1958	M	I800	454.6		P	P	PP
259	1914	F	R060	916.2		P		P
260	1945	M	I802	135.3		N	V	NV
261	1931	M	R060	1028.8		P		P
262	1927	M	R060	1811.9		P		P
263	1935	F	R060	159.7		N		N
264	1968	M	I802	287.9		P	P	PP
265	1956	M	I959	169.6		N		N
266	1928	F	I803	461.9		P	P	PP
267	1941	F	I259	109		N		N
268	1950	F	R060	427.4		P		P
269	1935	M	R074	192.3		N		N
270	1961	M	I803	631.3		P	P	PP
271	1978	F	R074	141.4		N		N
272	1941	F	I800	543		P	P	PP
273	1982	F	I269	187.5		N		N
274	1931	M	R060	607.1		P		P
275	1924	F	I220	1842.1		P		P
276	1975	F	I802	511.5		P	P	PP
277	1933	F	I802	453.1		P	V	PV
278	1938	M	I259	531		P		P
279	1933	M	R509	173.5		N		N
280	1931	M	I803	872.5		P	P	PP
281	1935	F	J209	327.1		P		P
282	1968	F	I803	176.4		N	V	NV
283	1942	M	I269	2550.1		P		P
284	1950	M	R060	362.6		P		P
285	1941	F	I802	538.7		P	P	PP
286	1927	F	I480	887.5		P		P
287	1987	F	R042	351.4		P		P
288	1948	F	I802	932		P	P	PP
289	1929	F	I209	209.9		N		N
290	1951	F	R060	139.5		N		N
291	1966	M	I803	161.4		N	V	NV
292	1947	M	R074	212.2		N		N
293	1930	M	R060	485.1		P		P
294	1925	M	R060	564.1		P		P
295	1970	M	J209	194.3		N		N
296	1947	M	R074	300.1		P		P
297	1947	F	R060	208.6		N		N
298	1947	F	I800	153.7		N	V	NV
299	1956	M	I802	758.5		P	P	PP
300	1947	F	I803	219.4		N	V	NV

V = dg.vyloučena  
P = dg.potvrzena



PREVENTIVNÍ VYŠETŘENÍ DO 50-TI LET			SUSPEKTNÍ VYŠETŘENÍ DO 50-TI LET		
Rok narození	Věk	Průměr	Věk	Průměr	Průměr
1975	40	163.00	1802	160	346.27
1977	16	D689	1839	229.6	
1978	37	D689	1803	142.9	
1975	40	D689	1802	235.9	
1973	42	D689	1802	173.8	
1987	28	D689	1802	263.1	
1988	29	D689	1800	268	
1980	35	D689	1802	116.4	
1985	30	D689	1803	176.4	
1992	23	D649	1802	150.5	
1995	20	D689	1803	161.4	
1995	20	D689	1802	297.3	
1974	41	D689	1803	260	
1979	36	D689	1802	926.5	
1983	32	D689	1803	408.1	
1988	47	D689	1802	511.5	
1975	40	D689	1802	277.1	
1973	42	D689	1800	645.9	
1985	30	D689	1802	277.1	
1971	44	D689	1802	520	
1999	16	D689	1802	870.9	
1980	35	D689	1802	267.9	
1980	35	D689	1802		
1978	37	D689	1802		
1979	36	D689	1802		
1991	24	D689	1802		
1973	42	D689	1802		
1980	35	D689	1802		
1981	34	D689	1802		
1983	32	D689	1802		
1981	34	D689	1802		
1978	37	D689	1802		
1977	38	D689	1802		
1992	23	D689	1802		
1986	29	D689	1802		
1982	33	D689	1802		
1976	39	D689	1802		
1973	42	D689	1802		
1997	18	D689	1802		
1986	29	D689	1802		
1993	22	D689	1802		
1992	23	D689	1802		
1978	37	D689	1802		
1980	35	D689	1802		
1981	34	D689	1802		
1994	21	D689	1802		
1983	22	D689	1802		
1975	40	D689	1802		
1992	23	D689	1802		
1994	21	D689	1802		
1986	29	D689	1802		

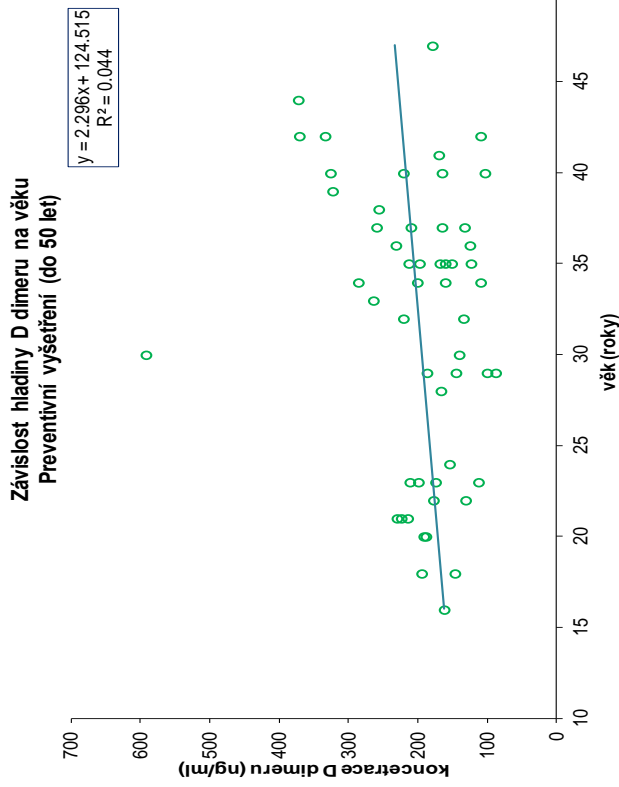
VÝSLEDEK		
Regressní statistika	MS	F
Násobné R	0.268103365	17043.29727
Hodnota spojitě	0.043724217	17043.29727
Nastavená hodr	0.024973712	2.3319
Chyba stf. hodr	85.49187041	7308.774415
Pozorování	53	52

ANOVA		
SS	Rozdíl	F
17043.29727	1	17043.29727
372747.4852	51	7308.774415
389790.7925	52	

Koefficienty	ba stf. hodr	1 Stat	Dobrá 95.0%	Horní 95%	Horní 95.0%
124.5150427	46.39416	2.541426347	0.019412	26.155	222.874916
2.28658889	1.503279	1.527054477	0.13293	-0.7224	-0.722389615



# Datový soubor č.3: Porovnání hodnot D-dimerů s výsledky ultrasonografického vyšetření žil

strana 1/1

Rok narození	Věk pacienta	Pohlaví	Diagnóza	Konzentrace d - dimeru ng/ml	cut - off hodnota	SONO	P průměr	potvrzeno SD	V CV	P	potvrzuje studii
1993	20	F	1802	160		V					
1979	34	F	1839	229.6		V					wyloučení diagnózy potvrzení diagnózy
1976	37	M	1803	142.9		V					
1976	37	M	1802	235.9		V					
1973	40	M	1802	173.8		V					
1973	40	F	1802	263.1		V					
1973	40	M	1800	268		V	202.72	58.29	28.76		
1970	43	F	1802	116.4		V					
1968	45	F	1803	176.4		V					
1967	46	F	1802	150.5		V					
1966	47	M	1803	161.4		V					
1965	48	M	1802	297.3	250 ng/ml	V					
1964	49	F	1803	260		V					
1992	21	F	1802	928.5		P					
1977	36	M	1803	409.1		P					
1975	38	F	1802	511.5		P					
1973	40	F	1800	531.8		P					
1970	43	M	1802	645.9		P	553.63	229.42	41.44		
1970	43	F	1802	277.1		P					
1968	45	F	1802	520		P					
1968	45	F	1802	870.9		P					
1968	45	M	1802	287.9		P					
1948	65	M	1802	340.9	650	V					
1947	66	F	1800	258.9	660	V					
1947	66	F	1800	153.7	660	V					
1947	66	F	1803	219.4	660	V					
1946	67	M	1802	202.5	670	V					
1946	67	F	1802	254.6	670	V					
1945	68	M	1802	135.3	680	V					
1941	72	F	1802	167.3	720	V					
1940	73	F	1802	205.7	730	V					
1936	77	M	1839	159.8	770	V					
1934	79	F	1802	157.1	790	V					
1934	79	F	1803	107.4	790	V					
1933	80	M	1802	275.9	800	V					
1933	80	F	1802	453.1	800	V					
1928	85	M	1800	306.4	850	V					
1921	92	M	1802	212	920	V					
1949	64	F	1802	490.6	640	P					
1948	65	F	1802	932	650	P					
1947	66	F	1828	460.9	660	P					
1941	72	F	1800	543	720	P					
1941	72	F	1802	539.7	720	P					
1938	75	F	1803	599.4	750	P					
1937	76	M	1803	101	760	P					
1934	79	M	1803	651	790	P					
1933	80	F	1802	541.7	800	P					
1933	80	M	1803	426.7	800	P					
1931	82	F	1803	707.1	820	P					
1931	82	M	1803	872.5	820	P					
1929	84	F	1803	620.1	840	P					
1928	85	F	1803	461.9	850	P					

Prepsání získaných hodnot pro graf  
do 50 let 202.72 553.63  
nad 50 let 226.06 567.69  
wyloučení diagnózy potvrzení diagnózy



Datový soubor č.4: Senzitivita vs specifcita

150	1967	M	R074	191.7	N			N
151	1984	M	R074	159.7	N			N
152	1933	M	I839	219.7	N			N
153	1952	F	R074	103.6	N			N
154	1946	M	R060	337.6	P			P
155	1923	F	J069	452.7	P			P
156	1933	M	R074	729.4	P			P
157	1933	F	I480	579.9	P			P
158	1930	F	I10	424	P			P
159	1965	M	I802	297.3	N	V		NV
160	1922	M	I200	812	P			P
161	1954	M	I500	122.4	N			N
162	1938	F	R104	439.7	P			P
163	1920	F	R074	588	P			P
164	1943	F	I479	117.3	N			N
165	1922	F	R55	282.4	N			N
166	1931	M	R060	848	P			P
167	1943	F	J449	236.8	N			N
168	1989	F	J189	330.9	P			P
169	1943	M	I480	153	N			N
170	1929	F	R060	865.7	P			P
171	1956	F	I802	110.2	N	V		NV
172	1955	F	R060	198.2	N			N
173	1960	M	I802	356.7	P	P		PP
174	1930	M	R060	1920	P			P
175	1954	M	I802	175.4	N	V		NV
176	1940	F	I802	205.7	N	V		NV
177	1963	M	J209	205.8	N			N
178	1956	M	R074	289.9	N			N
179	1935	F	I480	352.9	P			P
180	1936	M	I839	159.8	N	V		NV
181	1944	M	C349	1008.8	P			P
182	1958	F	R074	228.3	N			N
183	1947	M	R074	351.2	P			P
184	1940	M	I480	846.9	P			P
185	1928	M	R55	721.6	P			P
186	1950	M	I200	169.1	N			N
187	1976	M	I802	237.9	N	V		NV
188	1928	M	I509	885.2	P			P
189	1941	M	R060	1146.6	P			P
190	1949	M	J449	166.5	N			N
191	1924	F	J209	961.9	P			P
192	1931	F	R55	414	P			P
193	1928	F	I259	459.9	P			P
194	1949	F	I500	254	N			N
195	1951	F	I802	825	P	P		PP
196	1946	F	I802	254.6	N			NV
197	1946	F	R074	122.9	N	V		NV
198	1940	M	R074	689.2	P			P
199	1944	M	I480	426	P			P
200	1933	M	I480	842.2	P			P
201	1945	M	R074	224.2	N			N
202	1931	M	R060	272.6	N			N
203	1970	F	R074	465.8	P			P
204	1950	M	I10	21.2	N			N
205	1936	M	R509	886.7	P			P
206	1937	F	R060	688.1	P			P
207	1953	M	R074	357.5	P			P
208	1929	M	R060	237.8	N			N
209	1966	F	R060	192.4	N			N
210	1947	F	R074	262.1	N			N
211	1926	F	R060	792.6	P			P
212	1939	M	J449	259.6	N			N
213	1931	F	J189	257.4	N			N
214	1933	M	J449	337.4	N			N
215	1933	F	R060	224.1	N			N
216	1916	F	J189	1160.9	P			P
217	1931	F	R060	210	N			N
218	1949	M	I509	527.3	P			P
219	1979	F	I839	229.6	N	V		NV
220	1952	M	I802	137.4	N	V		NV
221	1964	F	I803	260	N	V		NV
222	1938	F	I803	599.4	P	P		PP
223	1973	M	I802	173.8	N	V		NV
224	1978	M	R509	115.5	N			N
225	1950	F	R074	216.7	N			N
226	1958	M	I802	473	N	V		NV
227	1977	M	I803	409.1	P	P		PP
228	1948	M	I802	340.9	P	V		PV
229	1953	M	R060	928.8	P			P
230	1944	F	J441	220.5	N			N
231	1956	M	J189	438.5	P			P
232	1933	M	I802	275.9	N	V		NV
233	1973	F	I802	263.1	N	V		NV
234	1973	M	I800	268	N	V		NV
235	1945	M	I480	332.5	P			P
236	1947	F	I800	258.9	N	V		NV
237	1957	M	R074	318.8	P			P
238	1968	F	I802	520	P	P		PP
239	1944	M	I480	143.6	N			N
240	1931	F	I803	707.1	P	P		PP
241	1930	F	R060	117.5	N			N
242	1958	M	R074	265.1	N			N
243	1969	F	J189	329	P			P
244	1929	F	I803	620.1	P	P		PP
245	1968	F	I802	870.9	P	P		PP
246	1993	F	I802	160	N	V		NV
247	1970	F	R55	259.5	N			N
248	1949	M	R074	155.2	N			N
249	1928	M	I800	306.4	N	V		NV
250	1943	M	R060	857.2	P			P
251	1954	F	R060	169.1	N			N
252	1947	F	I828	460.9	P	P		PP
253	1949	F	I802	480.6	P	P		PP
254	1934	F	R060	369.7	P			P
255	1934	F	J189	249.9	N			N
256	1945	F	R060	199	N			N
257	1963	F	I269	1046.8	P			P
258	1958	M	I800	454.6	P	P		PP
259	1914	F	R060	916.2	P			P
260	1945	M	I802	135.3	N	V		NV
261	1931	M	R060	1028.8	P			P
262	1927	M	R060	1811.9	P			P
263	1935	F	R060	169.7	N			N
264	1968	M	I802	287.9	N	P		NP
265	1956	M	I959	169.6	N			N
266	1928	F	I803	461.9	P	P		PP
267	1941	F	I259	109	N			N
268	1950	F	R060	427.4	P			P
269	1935	M	R074	192.3	N			N
270	1961	M	I803	631.3	P	P		PP
271	1978	F	R074	141.4	N			N
272	1941	F	I800	543	P	P		PP
273	1982	F	I269	187.5	N			N
274	1931	M	R060	607.1	P			P
275	1924	F	I220	1842.1	P			P
276	1975	F	I802	511.5	P	P		PP
277	1933	F	I802	453.1	P	V		PV
278	1938	M	I259	531	P			P
279	1933	M	R509	173.5	N			N
280	1931	M	I803	872.5	P	P		PP
281	1936	F	J209	327.1	P			P
282	1968	F	I803	176.4	N	V		NV
283	1942	M	I269	2550.1	P			P
284	1950	M	R060	362.6	P			P
285	1941	F	I802	539.7	P	P		PP
286	1927	F	I480	1875	P			P
287	1967	F	R042	351.4	P			P
288	1948	F	I802	932	P	P		PP
289	1929	F	I209	209.9	N			N
290	1951	F	R060	139.5	N			N
291	1966	M	I803	161.4	N	V		NV
292	1947	M	R074	212.2	N			N
293	1930	M	R060	485.1	P			P
294	1925	M	R060	564.1	P			P
295	1970	M	J209	194.3	N			N
296	1947	M	R074	300.1	N			N
297	1947	F	R060	208.6	N			N
298	1947	F	I800	153.7	N	V		NV
299	1956	M	I802	758.5	P	P		PP
300	1947	F	I803	219.4	N	V		NV

V = dq.vyloučena  
P = dq.potvrzena

Rok narození	Věk pacienta	Pohlaví	Diagnóza	Koncentrace d - dimeru ng/ml	cut - off
1997	16	F	R298	192.2	
1995	18	F	D689	186.2	
1992	21	F	S0600	307.9	
1990	23	F	I10	147.9	
1989	24	M	R060	131.8	
1989	24	F	D689	474	
1989	24	F	R060	60.1	
1989	24	F	J189	330.9	
1987	26	F	R769	165	
1987	26	F	R042	351.4	
1986	27	F	Z017	226.1	
1986	27	F	R074	150.1	
1985	28	F	R074	161.8	
1984	29	F	R074	310.7	
1984	29	F	M5499	206.5	
1984	29	M	R074	159.7	
1983	30	M	R074	148.5	
1983	30	M	R074	96.8	
1982	31	F	I269	187.5	
1981	32	F	J039	181.2	
1980	33	F	R103	214.4	
1980	33	F	D689	194.8	250
1978	35	F	N979	130.9	
1978	35	F	R55	154.9	
1978	35	M	R509	115.5	
1978	35	F	R074	141.4	
1977	36	F	R70	175.5	
1977	36	F	R074	174.5	
1976	37	F	I509	338.2	
1975	38	F	D689	163	
1975	38	F	O820	223.3	
1975	38	F	D689	323.6	
1975	38	M	R074	166	
1970	43	F	E042	169.9	
1970	43	F	R55	259.5	
1970	43	M	J209	194.3	
1969	44	F	J189	329	
1967	46	M	R074	191.7	
1966	47	M	N189	130.3	
1966	47	M	D689	97.2	
1966	47	F	R060	192.4	
1965	48	F	R42	326.2	
1964	49	F	J209	182.5	
1963	50	F	D689	107.1	
1963	50	M	J209	206.8	500
1963	50	F	I269	1046.8	
1962	51	F	I10	202.4	510
1962	51	M	R55	592.8	
1961	52	F	R060	168.8	520
1960	53	F	R060	150.9	530
1960	53	M	I10	212	
1959	54	F	R074	210.3	
1959	54	F	N119	1754.4	540
1959	54	F	I480	190	
1959	54	F	M5469	128.9	
1958	55	M	K921	565.3	
1958	55	F	R074	228.3	550
1958	55	M	R074	265.1	
1957	56	M	K850	1226.2	
1957	56	F	N189	739.6	560
1957	56	F	R074	114.6	
1957	56	M	R074	318.8	

1956	57	M	R060	153.8	570
1956	57	F	K801	115.8	
1956	57	M	R074	289.9	
1956	57	M	J189	438.5	
1956	57	M	I959	169.6	
1955	58	F	R55	190.5	580
1955	58	M	R074	953.8	
1955	58	F	R060	198.2	
1954	59	M	I500	122.4	590
1954	59	F	R060	169.1	
1953	60	F	R074	148.9	600
1953	60	M	R074	220.4	
1953	60	M	J450	148.8	
1953	60	M	R074	357.5	
1953	60	M	R060	928.8	
1952	61	M	J960	2526	610
1952	61	M	I64	151.2	
1952	61	F	R074	103.6	
1951	62	M	I480	424.9	620
1951	62	F	E042	176.7	
1951	62	F	I702	235.7	
1951	62	F	R060	139.5	
1950	63	F	Z955	912.6	630
1950	63	F	R074	138	
1950	63	M	I200	169.1	
1950	63	F	R074	216.7	
1950	63	F	R060	427.4	
1950	63	M	R060	362.6	
1949	64	F	I260	838.6	640
1949	64	M	R074	133	
1949	64	M	J449	166.5	
1949	64	F	I500	254	
1949	64	M	I509	527.3	
1949	64	M	R074	155.2	650
1948	65	F	M9408	276.4	
1947	66	M	I10	155.8	660
1947	66	F	I269	138.4	
1947	66	M	R55	149.6	
1947	66	M	R074	351.2	
1947	66	F	R074	262.1	
1947	66	M	R074	212.2	
1947	66	M	R074	300.1	
1947	66	F	R060	208.6	
1946	67	M	R074	948.2	670
1946	67	F	R060	799.3	
1946	67	M	R509	1128.6	
1946	67	M	M5499	114.2	
1946	67	M	R060	337.6	
1946	67	F	R074	122.9	680
1945	68	M	I110	153.6	
1945	68	M	C349	235.7	
1945	68	M	R074	224.2	
1945	68	M	I480	332.5	
1945	68	F	R060	199	690
1944	69	F	R074	87.6	
1944	69	F	R074	185.9	
1944	69	M	C349	1008.8	
1944	69	M	I480	426	
1944	69	F	J441	220.5	
1944	69	M	I480	143.6	

1943	70	F	R060	208.4	700
1943	70	F	I259	641	
1943	70	F	I479	117.3	
1943	70	F	J449	236.8	
1943	70	M	I480	153	
1943	70	M	R060	857.2	
1942	71	F	R55	323.3	710
1942	71	F	M7966	189.4	
1942	71	M	I269	2550.1	
1941	72	M	R060	252	720
1941	72	F	I509	485	
1941	72	M	R060	1146.6	
1941	72	F	I259	109	
1940	73	M	I500	846.9	730
1940	73	M	R074	689.2	
1939	74	F	R074	201.5	740
1939	74	F	I259	492.2	
1939	74	F	R060	786.9	
1939	74	F	I509	634.6	
1939	74	M	J449	259.6	
1938	75	F	I10	151.8	750
1938	75	F	R104	439.7	
1938	75	M	I259	531	
1937	76	M	D689	166.5	760
1937	76	F	R060	688.1	
1936	77	M	R0606	125.8	770
1936	77	M	R509	886.7	
1935	78	F	I259	208.4	780
1935	78	M	E100	566.8	
1935	78	M	I200	163.3	
1935	78	F	N180	741.2	
1935	78	M	I480	783.8	
1935	78	F	I480	352.9	
1935	78	F	R060	159.7	
1935	78	M	R074	192.3	
1935	78	F	J209	327.1	
1934	79	M	E119	563.8	790
1934	79	F	R060	369.7	
1934	79	F	J189	249.9	
1933	80	M	I702	580.8	800
1933	80	M	I839	219.7	
1933	80	M	R074	729.4	
1933	80	F	I480	579.9	
1933	80	M	I480	842.2	
1933	80	M	J449	337.4	
1933	80	F	R060	224.1	
1933	80	M	R509	173.5	
1932	81	M	I480	514	810
1932	81	F	J189	540	
1932	81	F	R002	168.3	
1932	81	M	I480	885.9	
1931	82	M	R060	848	820
1931	82	F	R55	414	
1931	82	M	R060	272.6	
1931	82	F	J189	257.4	
1931	82	F	R060	210	
1931	82	M	R060	1028.8	
1931	82	M	R060	607.1	
1930	83	F	R060	223.4	830
1930	83	F	I10	424	
1930	83	M	R060	1920	
1930	83	F	R060	117.5	
1930	83	M	R060	485.1	

1929	84	F	R002	108.2	840
1929	84	F	I480	151.2	
1929	84	F	I200	307.1	
1929	84	F	R060	865.7	
1929	84	M	R060	237.8	
1929	84	F	I209	209.9	
1928	85	M	I211	4544.9	850
1928	85	F	D391	948.8	
1928	85	F	A46	384.2	
1928	85	M	R55	721.6	
1928	85	M	I509	885.2	
1928	85	F	I259	459.9	
1928	85	F	R060	792.6	860
1927	86	M	I259	846.5	
1927	86	F	R55	241.9	
1927	86	F	S7210	1189.9	
1927	86	M	R060	1811.9	
1927	86	F	I480	1875	870
1926	87	F	I501	743.6	
1926	87	F	R074	794.8	
1926	87	F	R42	719.2	
1926	87	M	E86	612.1	880
1925	88	F	R55	173	
1925	88	M	I250	265	
1925	88	M	R060	564.1	890
1924	89	M	R060	192.2	
1924	89	F	J209	961.9	
1924	89	F	I220	1842.1	900
1923	90	M	K567	615.1	
1923	90	F	J069	452.7	910
1922	91	F	R060	313.2	
1922	91	F	R55	925.9	
1922	91	F	R55	897.3	
1922	91	M	R074	197.8	
1922	91	M	I200	812	
1922	91	F	R55	282.4	930
1920	93	F	R074	588	
1918	95	F	E86	859.2	950
1916	97	F	J189	1160.9	970
1914	99	F	I10	518.3	990
1914	99	F	R060	916.2	