

DIF1/23: Hodnocení nátěru periferní krve

Tento cyklus akreditovaného programu byl realizován v souladu s dokumentem *Plán EHK 2023*.

Vzorky

Nátěry pro tento cyklus EHK byly připraveny na pracovišti subdodavatele.

Komentář supervizora

Tohoto cyklu se účastnilo 144 laboratoří, z toho 20 ze Slovenska.

Vzorek A

Muž 55 let, od 2/2019 sledován na hematologii pro dg. CLL, od 8/2022 pak ve FN Hradec Králové, postupná progresse CLL od 12/2022, proto zahájena léčba. Při přijetí únava, pocení, úbytek hmotnosti, objektivně zvětšené uzliny v oblasti krku.	KO v den odběru pro přípravu nátěrů pro cyklus EHK: Leukocyty 214 ·10 ⁹ /L Erytrocyty 4,40 ·10 ¹² /L Hemoglobin 117 g/L Hematokrit 0,377 MCV 85,7 fL Trombocyty 110 ·10 ⁹ /L MCH 26,6 pg MCHC 310 g/L RDW 14,5 %
---	--

Leukocyty – rozpočet: lymfocytóza, neutropenie a monocytopenie

Leukocyty – morfologie: většina lymfocytů atypických ve smyslu nádorového onemocnění, četná holá jádra a jaderné stíny

Erytrocyty: normocytární, lehce hypochromní, ovalocyty

Trombocyty: beze změn

Diagnóza: CLL

FCM z PK: SLL/CLL – Matutes skóre 4-5/5 (87 % monoklonálních B lymfocytů: CD45+; CD19+; CD20+; CD5+; CD23+; CD43+; CD200+; IgM+/-; kappa+)

V souboru vztažných hodnot nebyly provedeny žádné úpravy (ve srovnání s konsenzem expertů).

Výsledky

Leukocyty – rozpočet: 100 % účastníků správně uvedlo lymfocytózu, „jen“ 99 % neutropenii a pouze 76 % monocytopenii. Ne zcela pochopitelný je údaj o posunu doleva, který uvedlo 5 pracovišť.

Leukocyty – morfologie: Patologii většiny lymfocytů v rámci dg. CLL zaznamenalo 94 % pracovišť (kolem 16 µm velké buňky, většinou s vysokým N/C poměrem, kondenzovaný chromatin v blocích, bez jádérka). Četné jaderné Gumprechtovy stíny, jejichž přítomnost v nátěru krve patří k diagnóze a jejichž příčinou je vysoká fragilita CLL lymfocytů, popsala všechna pracoviště. V nátěru mohly být zastiženy ojedinělé reaktivní lymfocyty (uvedlo 13 %) a LGL (4 %), početní zastoupení ale nesplňovaly (viz Pokyny pro zápis výsledků). Vlasaté lymfocyty chybně uvedla 3 pracoviště.

Erytrocyty: Správně 56 % účastníků uvedlo erytrocyty normocytární, 66 % hypochromní, 43 % přítomnost ovalocytů. Četnější chybné nálezy byly beze změn (15 %) a sférocyty (15 %), ostatní chybné nálezy byly ojedinělé (pod 5 %).

Trombocyty: Beze změn právně popsalo 74 %. Chybné odpovědi byly hypogranulární trombocyty (15 %), makro- (10 %) a mikrotrombocyty (8 %).

Klinické doporučení: Všichni účastníci správně uvedli, že nátěr je patologický a doporučují vyšetření specialistou.

Odhad diagnózy: 89 % správně uvedlo dg CLL, Diagnózu *neoplazie ze zralých lymfoidních buněk – blíže nelze určit* (12 % účastníků) sice nelze považovat za chybu, ale uvedl ji jen jeden expert. Avšak 4,9 % chybně uvedlo prolymfocytární leukémii - typické prolymfocyty (lymfocyty větší než CLL formy, jemněji kondenzovaný chromatin) nebyly přítomny a pokud se v některých nátěrech objevily, tak početně nesplňovaly kritérium > 55 % prolymfocytů v nátěru. Anémie doprovází základní onemocnění a určitě se nejednalo o akutní leukémii.

Technika nátěru vyhovovala všem a **obarvení** nevyhovovalo 1 účastníkovi.

DIF1/23: Hodnocení nátěru periferní krve**Vzorek B**

Muž 50 let, vyšetřen pro progredující dušnost, v posledních 3 týdnech uvádí několikrát zimnici bez horečky. Jiné obtíže neudává. Klinicky: uzliny, játra, slezina nehmavné; krvácivé projevy nejsou	KO v den odběru pro přípravu nátěrů pro cyklus EHK: Leukocyty 18,0 ·10 ⁹ /L Erytrocyty 4,38 ·10 ¹² /L Hemoglobin 121 g/L Hematokrit 0,355 MCV 81,1 fL Trombocyty 88 ·10 ⁹ /L MCH 27,6 pg MCHC 341 g/L RDW 17,3 %
---	--

Leukocyty – rozpočet: kolem 60 % blastických elementů, proto neutropenie, monocytopenie

Leukocyty – morfologie: vedle myeloblastů a monoblastů byly přítomny atypické monocyty, četná holá jádra a vakuolizace buněk

Erytrocyty: anizocytóza a mikrocytóza, hypochromie, místy sférocyty

Trombocyty: oj. hypogranularita

Diagnóza: AML-M5

Cytologie KD: 85 % patologických buněk blastického charakteru; cytochemie: pozitivní butyrát- a acetátesteráza včetně blokace.

FCM KD: 65 % blastů – vysoký FSC a SSC; fenotyp: CD45+ (slabě); CD34-; cMPO-; CD117+/-; HLA-DR+; CD4+; CD11c+; CD15+; CD25-; CD31+; CD33+; CD36+; CD38+; CD58+; CD64+; CD71+ (slabě); koexprese nádorového markeru NG2 na cca 50 % buněk. Závěr: fenotyp odpovídá nezralým elementům monocytárního původu (v.s. monoblasty) a dg. AML typu AML-M5a (i když není splněna podmínka 80 % monoblastů), blasty neexprimují prognostický marker CD25, částečně exprimují nádorový marker NG2.

V souboru vztažných hodnot nebyly provedeny žádné úpravy (ve srovnání s konsenzem expertů).

Výsledky

Leukocyty – rozpočet: Změny v rozpočtu vyplývaly z přítomnosti AML: neutropenie (95 %) a posun doleva (58 %). Akceptována byla monocytopenie (48 %). 8 pracovišť uvedlo lymfocytózu, zřejmě zaměnila blasty za lymfocyty.

Leukocyty – morfologie: 86 % správně popsal holá jádra z blastických buněk, 46 % vakuolizaci v blastech. Akceptovali jsme přítomnost atypických monocytů (40 % účastníků), které byly součástí diagnózy akutní monocytární/monoblastické leukémie, kdy v nátěru převažují monoblasty, promonocyty a patologické monocyty, které bývají větší, mají většinou hypo/alobulizované či naopak atypicky členitě lobulizované jádro a hojnou, místy i více granulární či vakuolizovanou cytoplazmu. Četnější chybné odpovědi byly agranulace (14 %), atypické lymfocyty (10 %), LGL formy (10 %) a reaktivní lymfocyty (7 %), avšak nebyla splněna početní kritéria dle Pokynů.

Erytrocyty: Správné odpovědi byly: anizocytóza (97 %), mikrocytóza (70 %) a hypochromie (38 %, i v hodnotách KO). Akceptovány byly sférocyty (35 %). Početní kritéria ale nesplňovaly oj. stomatocyty (17 %), polychromázie (8 %).

Trombocyty: Zde nedošlo ke konsenzu ani mezi experty. Proto byly jen akceptovány odpovědi beze změn (47 % účastníků), makrotrombocyty (30 %) a hypogranularita trombocytů (24 %). Nejčtenější chybná odpověď byla destičkové shluky (12 % pracovišť).

Klinické doporučení: Až na jedno pracoviště se všichni účastníci shodli, že nátěr je patologický a doporučují vyšetření specialistou.

Odhad diagnózy: 55 % správně uvedlo AML a 49 % uvedlo přijatelnou odpověď akutní leukémie blíže neurčená – tedy téměř všichni určili diagnózu akutní leukémie správně. Anémie a trombocytopenie doprovází základní onemocnění a dle Pokynů ji neuvádíme! Určitě nemůžeme říci, že se jedná o virovou infekci či chronickou myeloproliferaci nebo neoplázii ze „zralých“ lymfoidních buněk.

Fatálně chyboval jediný účastník, který nátěr B uzavřel jako:

- Nátěr je ve fyziol. mezích/nátěr s reak. změnami
- Nedoporučujeme vyšetření specialistou hematologem
- Dg: Virová infekce vč. inf. mononukleózy

Technika nátěru vyhovovala všem a **obarvení** nevyhovovalo 2 % účastníků.

DIF1/23: Hodnocení nátěru periferní krve**Důležité upozornění**

Je naprosto nezbytné, abyste se při zápisu výsledků vždy řídili aktuálním návodem *Pokyny pro zápis výsledků* – odkaz na dokument je k dispozici v aplikaci Cibule a navíc je trvale k dispozici na www.sekk.cz v oddíle *Infoservis* v sekci *DIF*. **Neuvádějte náhodné nálezy!**

Pravidla pro určování konsenzu expertů a pro bodové hodnocení výsledků účastníků najdete na www.sekk.cz v oddíle *Infoservis* v sekci *DIF* v dokumentu *Určování vztažných hodnot a bodové hodnocení výsledků*.

Při doručení zásilky se vzorky si ihned skla zkontrolujte a zjistíte-li vady (poškrábání, krátký nátěr, rozbité sklo), vyžádejte si v SEKKu náhradu.

Poznámka k pořadí účastníků

Již řadu let funguje v programu DIF (a podobně v programech NF a NKDF) systém hodnocení, kdy všichni účastníci, kteří dosáhli alespoň 60 % maximálního možného počtu bodů, jsou hodnoceni jako úspěšní.

Navíc, jako doplňující informaci, ve svých výsledkových listech naleznete v závěrečné tabulce, která shrnuje počty dosažených bodů, i pořadí vašeho pracoviště podle počtu dosažených bodů. **Toto pořadí však nemá nic společného s úspěšností!**

Je to stejný princip jako např. v cyklech Krevní obraz (KO), kde v případě stanovení počtu erytrocytů je maximální přijatelná odchylka od vztažné hodnoty $D_{max} = 7\%$ a také se zde dále nezkoumá, zda se úspěšný účastník se svým výsledkem odchýlil o 0,1 % nebo o 6,9 %. Prostě je úspěšný, protože jeho relativní chyba nepřesáhla 7 %.

Pořadí, na kterém jste se umístili v cyklu DIF, tak vždy považujte za orientační informaci a případně podnět ke zlepšování, ale v žádném případě nejde o kritérium úspěšnosti!

Poznámka k náhodným nálezům

V cyklu DIF se nehodnotí výsledky účastníků ve vztahu ke konkrétním sklům, která měli v mikroskopu, ale výsledkem je statistický vzorek odpovědí všech účastníků nad souborem všech skel. Odtud plyne možnost – a netajíme to – že účastník má hodnocen nález nějakého znaku jako chybný, i když na jeho skle prokazatelně byl zastížen (a třeba i na několika dalších sklech). Vtip je v tom, že znak nebyl přítomen na většině skel tj., že se jednalo o náhodný nález.

Námítka, že to je nespravedlivé nebo nepřijatelné, je v rámci daného modelu hodnocení irelevantní. A abychom uvedení „šum“ v hodnocení eliminovali, používáme bodové hodnocení, které poskytuje poměrně velmi široký prostor pro „chybné“ odpovědi, aniž by tyto chybné odpovědi způsobily to, že účastník bude hodnocen jako neúspěšný.

Odborná
supervize:MUDr. Miloslava Matýšková, CSc.
FN Brno - pracoviště Bohunice
Oddělení klinické hematologie
Jihlavská 20, 625 00 Brno
e-mail: matyskova.miloslava@fnbrno.czMUDr. Dana Mikulenková
ÚHKT, Morfologicko – cytochemická laboratoř
U Nemocnice 1
128 20 Praha 2
e-mail: dana.mikulenkova@uhkt.cz**Přílohy**

Jako přílohu této zprávy jednotliví účastníci cyklu dále dostávají:

Název přílohy	Poznámka
Osvědčení o účasti	Dostávají účastníci, kteří splnili podmínky pro jeho vystavení.
Výsledkový list (s bodovým hodnocením)	Dostávají účastníci, kteří uvedli výsledky. Poznámka k výsledkovým listům Ve svých výsledkových listech naleznete v závěrečné tabulce, která shrnuje počty dosažených bodů, i pořadí vašeho pracoviště podle počtu dosažených bodů. Pracoviště, která dosáhla shodného počtu bodů s jinými pracovišti, mají pořadí označeno jako interval. Například zápis 42 – 53 znamená, že 12 pracovišť dosáhlo shodného počtu bodů a společně se umístila na 42. až 53. místě z pohledu počtu dosažených bodů. Pořadí není kritérium pro hodnocení, je to doplňující informace.
Histogramy	Pouze pro kvantitativní výsledky.
Youdenovy grafy	Pouze pro ty parametry diferenciálního rozpočtu leukocytů, kde převažují nenulové výsledky pro oba vzorky (tj. medián je pro oba vzorky nenulový).

Přílohy jsou identifikovány svým názvem, označením cyklu a kódem účastníka a jsou určeny pouze pro potřebu tohoto účastníka.

DIF1/23: Hodnocení nátěru periferní krve

Další informace

Závěrečná zpráva s výjimkou příloh je veřejná. Jak účastníkům, tak ostatním odborníkům, jsou na adrese www.sekk.cz volně k dispozici další informace, zejména:

- Souhrnný přehled výsledků tohoto cyklu včetně fotografií.
- Popis algoritmu určování vztažných hodnot a přijatelných rozdílů.
- Seznam expertních pracovišť.
- Dokument *Plán EHK* (obsahuje informace, které se týkají jak tohoto konkrétního cyklu, tak EHK obecně).
- Vysvětlení obsahu jednotlivých výše uvedených příloh.
- Kontakt na poskytovatele EHK a na koordinátora EHK a seznam všech supervizorů včetně kontaktů.