

NF2/23: Nátěr periferní krve – fotografie

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

Vzorky

Zadání cyklu bylo k dispozici na internetu, a to v podobě 4 fotografií nátěru periferní krve. Všechny 4 fotografie jsou rovněž součástí vyhodnocení tohoto cyklu na www.sekk.cz.

Vztažné hodnoty

Určení vztažných hodnot v tomto cyklu probíhá na základě konsenzu expertů:

- MUDr. Miloslava Matýšková, CSc. (supervizor cyklu)
- MUDr. Dana Mikulenková (supervizor cyklu)
- MUDr. Jaroslava Voglová (FN Hradec Králové)

Komentář supervizora

Cyklu se zúčastnilo 44 laboratoří, z toho 7 ze Slovenska.

Počet schistocytů

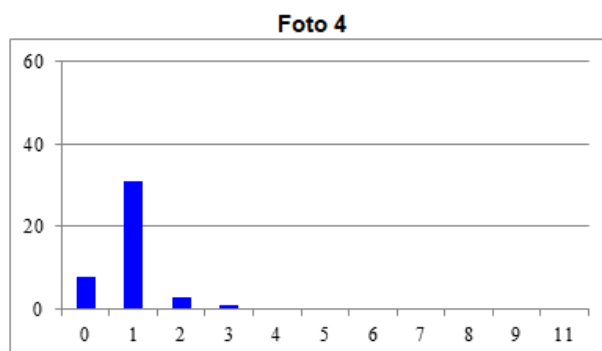
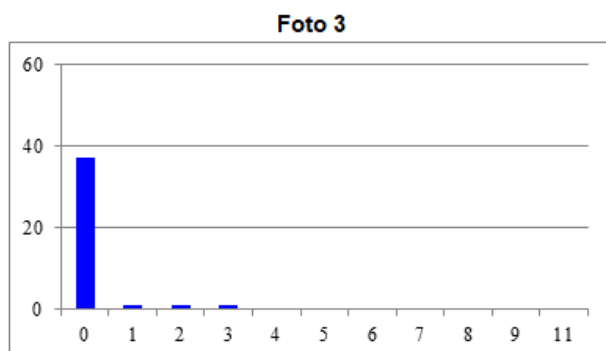
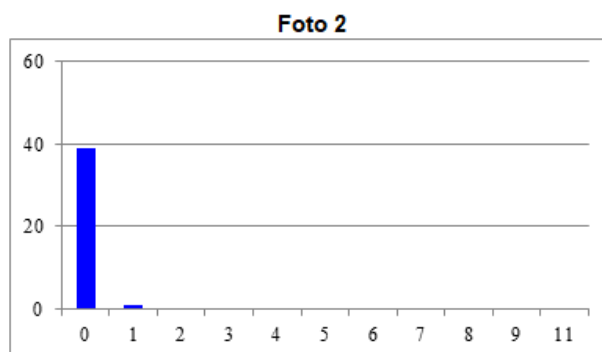
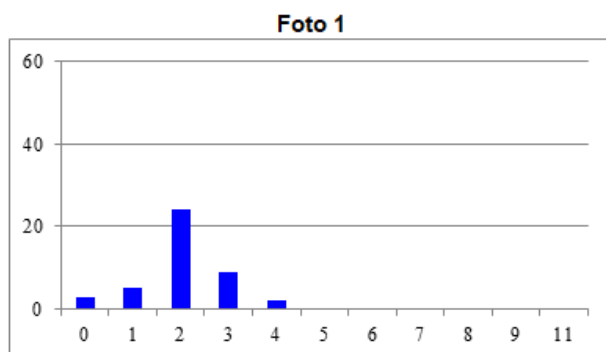
Účastníci v tomto cyklu uvádějí rovněž *Počet schistocytů a dalších fragmentocytů*. Tato položka je zařazena proto, že v hodnocení schistocytů (fragmentocytů) jsou stále nejasnosti i přesto, že bylo vydáno Doporučení ČHS pro jejich identifikaci a kvantifikaci (viz <http://labsekce.hematology.cz>). Identifikace zvýšeného počtu fragmentocytů, mezi které patří typické mechanicky poškozené erythrocyty i mikrosférocyty, je důležitá pro stanovení mikroangiopatické hemolytické anémie např. při dg. TTP, která je jednou z urgentních diagnóz vyžadujících hospitalizaci a časnou terapii. Následující grafy ukazují, kolik účastníků (osa y) uvedlo konkrétní počet schistocytů/fragmentocytů (osa x). Nejsou zahrnuti účastníci, kteří počet neuvedli (tj. pokud účastník počet neuvedl, nepočítá se jako by „uvedl nulu“). Výsledek lze využít v rámci akreditace metody „Vyšetření nátěru na schistocyty“.

Skutečný počet schistocytů je uveden v tabulce:

Foto 1	Foto 2	Foto 3	Foto 4
2	0	0	1

Odpovědi účastníků shrnuje tabulka a grafy:

	Foto 1	Foto 2	Foto 3	Foto 4
Počet účastníků, kteří uvedli počet schistocytů	43	40	40	43
Minimální uvedený počet	0	0	0	0
Průměr	2	0	0	1
Maximální uvedený počet	4	1	3	3



NF2/23: Nátěr periferní krve – fotografie**Důležitá poznámka k hodnocení výsledků**

V řadě případů (blasty, jaderné stíny) je v **Pokynech pro zápis výsledků** přesně uvedeno, jaké morfologické změny mají účastníci vypisovat, jsou-li přítomny. Jestliže žádná z uvedených změn není identifikována, pak je správně neuvádět žádný popis, tedy **správný je výsledek Neuvedeno**.

Řada účastníků v takových případech ale zapisuje **Beze změn, což je formálně chybný výsledek** (není v souladu s Pokyny). Protože je ale možné tento zápis chápat i jako vyjádření myšlenky „objekt nenesé žádnou morfologickou změnu z těch, které jsou vyjmenovány v Pokynech“, oba výše uvedené zápisy zatím akceptujeme.

Avšak **důrazně všem účastníkům doporučujeme**, aby výsledky zapisovali v souladu s Pokyny pro zápis, a nevyključujeme, že současný „benevolentnější“ přístup k hodnocení v budoucnu změníme.

Fotografie 1

Pacientka s dg. AML s mutací NPM1.

Objekt č. 1: lymfocyt charakteru LGL (typická drobná azurofilní granula)

Objekt č. 2: blast – morfologicky nemá žádnou v číselníku uvedenou odchylku, tj. morfologii neuvádíme (viz Pokyny pro zápis výsledků)

Objekt č. 3: jaderný stín

Objekt č. 4: blast

Erytrocyty: anizocytóza, schistocyty, pod objektem č. 2 stomatocyt, část erytrocytů je hypochromní, mírná polychromázie erytrocytu u horního okraje, na 11 od jaderného stínu je knizocyt, při horním okraji naznačené terčovitě ery

Trombocyty: anizocytóza, makrotrombocyt, hypogranularita

Výsledky

Objekt č. 1: 95 % správně určilo lymfocyt. LGL formu uvedlo pouze 36 %, 50 % si myslí, že je beze změn (ano, tato LGL forma je beze změn) – oba popisy akceptovány. Dva účastníci buňku zařadili jako neutrofilní myelocyt - charakter chromatinu jádra, který je kondenzovanější s menšími světlými místy, ale tuto buňku zařazuje mezi lymfocyty.

Objekt č. 2: Myeloidní blast s mističkovitým zesvětlením poznalo jen 86 % účastníků, 6 účastníků zařadilo buňku chybně jako lymfocyt (chromatin má ale jemnou strukturu, je podobná jako u objektu č. 4). V morfologii bylo správně neuvést žádný popis (64 %), 23 % uvedlo „beze změn“ – viz rámeček na začátku strany. Není to atypická forma lymfocytu (11 %) - velikost buňky a struktura jádra nesplňují podmínky pro atypický lymfocyt (i s ohledem na přítomnost blastu – objekt č. 4) a určitě to není LGL forma lymfocytu (jedna chybná odpověď - srovnajte s obj. č. 1). Tento typ blastu myeloidního charakteru s vysokým N/C poměrem (cytoplazma tvoří jen úzký srpek při dolním okraji), jemným chromatinem a s mističkovitým projasněním vídáme u AML s mutací s NPM1 často.

Objekt č. 3: Jaderný stín zařadilo správně 100 % účastníků. V morfologii bylo správně neuvést žádný popis (77 %), 23 % uvedlo „beze změn“ – viz rámeček na začátku strany.

Objekt č. 4: Blast poznala jen polovina účastníků. V morfologii bylo správně neuvést žádný popis (39 %), 14 % uvedlo „beze změn“ – viz rámeček na začátku strany. 45 % se chybně domnívalo, že se jedná o lymfocyt, a to atypický (30 %) a 14 % chybně uvedlo, že se jedná o reaktivní lymfocyt. A co jemná struktura chromatinu, která je téměř stejná jako u obj. č. 2? 2 pracovníci si myslí, že se jedná o atypický/reaktivní monocyt, a co jádro, které postrádá jakoukoliv členitost?

Erytrocyty: Správné byly odpovědi anizocytóza (68 %), schistocyty 70 % (v pravém horním rohu a při pravém okraji pod jaderným stínem charakteru keratocytu) a pod obj. č. 2 stomatocyty (95 %). Akceptovány: polychromázie (52 %, velký šedavý erytrocyt při horním okraji v polovině), hypochromie (27 %), sférocyty (77 %, mezi objektem č. 1 a 3), Howell-Jollyho tělíska (30 %, nahoře při pravém okraji vedle holého jádra), knizocyt (9 %, vlevo směrem na 11 od jaderného stínu). I když je uprostřed větší erytrocyt, nelze nátěr hodnotit jako makrocytózu (11 %), není ani jednoznačný dakryocyt (18 %), nejsou přítomna Pappenheimerova tělíska, aglutinace, penízkovatění, či anizochromie (ojedinělé odpovědi).

Trombocyty: Anizocytóza (86 %), makrotrombocyt (98 %) a hypogranularita (66 %) jsou správné odpovědi. Nejsou přítomny mikrotrombocyty (1 účastník).

Fotografie 2

Vzorek pocházel od pacienta s monoblastovou leukémií.

Objekt č. 1 – 4: blastické buňky charakteru monoblastů

Erytrocyty: penízkovatění, hypochromie

Výsledky

Objekt č. 1: Blast zařadilo správně 64 %. V morfologii bylo správně neuvést žádný popis (43 %), 11 % uvedlo „beze změn“ – viz rámeček na začátku strany. Dále jsme akceptovali vakuolizaci (27 %, jedna vakuola, která je na periferii

NF2/23: Nátěr periferní krve – fotografie

neohraničené cytoplazmy). Jedná se o monoblast, který je lehce přes 20 µm velký, má vyšší N/C poměr, jemně nehomogenní chromatin s centrálně uloženým velkým ohraničeným jadérkem, prostornější, nehomogenně sytější bazofilní cytoplazma, která může být jemně azurofilně granulární (u tohoto blastu ale granula nebyla), nebo může obsahovat vakuoly. Všechny ostatní popisy (zařazení buňky a její morfologie) byly chybné: 18 % uvedlo, že se jedná o plazmocyt (struktura chromatinu a cytoplazmy a centrální uložení jádra tomu odporují), 16 % lymfocyt, 1 účastník zařadil buňku jako monocyt; 9,1 % uvedlo atypický lymfocyt, 6,8 % vidělo „vlasatý“ lymfocyt.

Objekt č. 2: Správná odpověď byla blast (66 %). Opět se jedná o monoblast. V morfologii bylo správně neuvést žádný popis (59 %), 23 % uvedlo „beze změn“ – viz rámeček na začátku strany 2. Všechny ostatní popisy byly chybné: 20 % plazmocyt, 14 % lymfocyt, 11 % uvedlo atypický lymfocyt, 4,5 % vidělo „vlasatý“ lymfocyt.

Objekt č. 3: Správná odpověď byla blast (39 %). Akceptovali jsme pro jemné, téměř nezřetelné přeložení jádra v pravé dolní třetině promonocyt (18 %). V morfologii bylo správně neuvést žádný popis (23 %), 2 % uvedlo „beze změn“ – viz rámeček na začátku strany 2. Další morfologické nálezy jsme pro různorodost výsledků jen akceptovali: vakuolizace (50 %) a atypický monocyt (11 %). Chybné byly ale výsledky zařazující buňku jako plazmocyt (20 %), lymfocyt (16 %), 11 % uvedlo atypický lymfocyt, 6,8 % vidělo „vlasatý“ lymfocyt.

Objekt č. 4: Opět se jedná o monoblast (stejná buňka jako objekt č. 1 a 2); správně tedy blast (30 %). V morfologii bylo správně neuvést žádný popis (39 %), 11 % uvedlo „beze změn“ – viz rámeček na začátku strany 2. Všechny ostatní termíny (zařazení buňky a její morfologie) byly chybné: atypické monocyty (11 %, jedná se o blast!), atypický lymfocyt (27 %), plazmocyt (23 %), „vlasatý“ lymfocyt (4,5 %).

Erytrocyty: Penízkovatění byla správná odpověď (98 %). Hypochromie (32 %) a mikrocytóza (14 %) byly akceptovány, akceptovali jsme ale i sférocyty (erytrocyty se díky penízkovatění překrývají a nabývají charakteru sférocytů). Stomatocyty (14 %) ale nebyly přítomny a ostatní chybné nálezy uvedly jednotky účastníků.

Fotografie 3

Vzorek pocházel od pacienta s lymfomem z marginální zóny.

Objekt č. 1: atypický lymfocyt – lymfomová buňka

Objekt č. 2: reaktivní lymfocyt – pravděpodobně LGL (při větším zvětšení viditelná drobná azurofilní granula s projasněním cytoplazmy kolem)

Erytrocyty: anizocytóza, stomatocyty, ovalocyty, echinocyty, terčovitě erytrocyty

Trombocyty: bez výraznějších změn

Výsledky

Objekt č. 1: Jen jeden účastník si lymfocyt spletl s monocytem (mají odlišnou morfologii chromatinu). Že je buňka patologická poznal jen jeden účastník, většina (93 %) buňku zařadila jako reaktivní formu - ve srovnání s obj. č. 2 má naznačeně blokovou strukturu chromatinu, charakter chromatinu je ale podobný. Oba termíny jsme jen akceptovali.

Objekt č. 2: Opět jeden účastník zařadil chybně lymfocyt jako monocyt. Tento lymfocyt má reaktivní charakter (hojná lehce bazofilní cytoplazma), má v cytoplazmě naznačená granula, jedná se o LGL – oba termíny jsme označili jako správné.

Erytrocyty: Správné popisy: anizocytóza (64 %), stomatocyty (98 %), ovalocyty (59 %), terčovitě erytrocyty (36 %). Akceptovány echinocyty 39 % (erytrocyty měly ale spíše jen nepravidelně vroubkatý okraj – arteficiálně?) a hypochromie (20 %, spíše to ale byly torocyty s jasně ohraničením okraje středového terčíku).

Trombocyty: Akceptována anizocytóza (61 %) i beze změn (34 %) - oba nálezy byly na fotce vidět hraničně; není ale zřetelná hypogranularita (14 %).

Fotografie 4

Vzorek pocházel od pacienta s PML: RARA pozitivní akutní promyelocytární leukémií.

Objekt č. 1: patologický leukemický promyelocyt

Erytrocyty: anizocytóza, ovalocyty, schistocyt, susp. Howell-Jollyho tělísko (vpravo od objektu)

Trombocyty: v podstatě beze změn

Výsledky

Objekt č. 1: Patologický leukemický (89 %) promyelocyt (91 %) poznali téměř všichni. Je to typická buňka pro hypergranulární formu APL – s bilobárním jádrem a s hojnou azurofilní granulací; zcela chybně zařadili 2 pracoviště tuto buňku jako bazofil (na bazofil je dosti velká buňka) a po jednom pracovišti eozinofil či plazmatickou buňku.

Erytrocyty: Anizocytóza (84 %) a ovalocyty (98 %) jsou správné odpovědi. Akceptovány: schistocyt (59 %, při pravém okraji), Howell-Jollyho tělísko (52 %, v erytrocytu vpravo od promyelocytu) a anizochromie (20 %).

Trombocyty: Pro hraniční vyjádření nálezů bylo vše jen akceptováno beze změn (59 %), anizocytóza (27 %), hypogranularita (16 %).

NF2/23: Nátěr periferní krve – fotografie**Závěr**

Tento cyklus byl zaměřen na hemato-onkologické diagnózy, se kterými se běžná laboratoř na svém pracovišti setká jen minimálně. Ale právě proto je potřeba patologické buňky (myeloblast, monoblast, lymfomová buňka, leukemický promyelocyt) umět zařadit mezi patologické elementy. Poté musí laboratoř informovat svého klienta o závažnosti nálezů a pacienta má klient referovat na hemato-onkologické centrum, na kterém se provede další diagnostika (vyšetření kostní dřeně průtokovou cytometrií, genetické vyšetření). Většinu buněk účastníci zařadili správně jako patologické buňky, což je potěšující. Apelujeme ale na čtení pokynů pro zápis výsledků - v tomto cyklu jsme většinu morfologických popisů blastických buněk jen akceptovali.

Poznámka k hodnocení výsledků účastníků

Již řadu let funguje v programu NF (a podobně v programech DIF 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 třeba 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 NF, tak vždy považujte za orientační informaci a případně podnět ke zlepšování, ale v žádném případě nejde o kritérium úspěšnosti!

Bodové hodnocení výsledků počítá s tím, že vztažných hodnot (tj. správných odpovědí) může být více, než je počet nálezů, které lze uvést jako výsledek (např. pro identifikaci typu buňky mají účastníci k dispozici jednu položku pro zápis výsledku a jako správné mohou být hodnoceny dva typy buněk). Do maximálního počtu bodů, které lze v cyklu získat, se pro každou položku započítává jen takový počet správných odpovědí, který odpovídá počtu nálezů, které mohou účastníci uvést.

Odborná
supervize:

MUDr. Miloslava Matýšková, CSc.
FN Brno – pracoviště Bohunice
Oddělení klinické hematologie
Jihlavská 20, 625 00 Brno
e-mail: matyskova.miloslava@fnbrno.cz

MUDr. 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 22 – 33 znamená, že 12 pracovišť dosáhlo shodného počtu bodů a společně se umístila na 22. až 33. místě z pohledu počtu dosažených bodů. Pořadí není kritérium, je to doplňující informace.

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

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 této závěrečné zprávy.
- Pravidla pro přidělování bodů (oddíl Infoservis, sekce NF).
- Dokument *Plán EHK* (obsahuje informace, které se týkají jak tohoto cyklu, tak EHK obecně).
- Vysvětlení obsahu jednotlivých výše uvedených příloh.
- Kontakt na poskytovatele EHK a na koordinátora EHK a seznam všech supervizorů včetně kontaktů.