

DIF2/24: Hodnocení nátěru periferní krve

Tento cyklus akreditovaného programu byl realizován v souladu s dokumentem *Plán EHK 2024*.

Vzorky

Nátěry pro tento cyklus EHK byly připraveny na pracovišti subdodavatele.

Komentář supervizora

Tohoto cyklu se účastnilo 150 laboratoří, z toho 15 ze Slovenska.

Vzorek A

Muž 63 let, odeslán na vyšetření praktickým lékařem pro slabost, únavu, profuzní noční pocení, hmotnostní úbytek 4 kg za poslední měsíc, bolesti kloubů, bolesti a povlak na sliznici dutiny ústní. Před dvěma týdny prodělal chirurgický zákrok pro absces v blízkosti konečníku. Klinicky: játra přesahují žeberní oblouk +3 cm	KO v den odběru pro přípravu nátěrů pro cyklus EHK:	
	Leukocyty	83,9 · 10 ⁹ /L
	Erytrocyty	3,16 · 10 ¹² /L
	Hemoglobin	93 g/L
	Hematokrit	0,270
	MCV	85,4 fL
	Trombocyty	47 · 10 ⁹ /L
	MCH	29,4 pg
	MCHC	344 g/L
	RDW	15,7 %

Leukocyty – rozpočet: jasně patologický – převaha blastických elementů, tím pádem neutropenie, lymfocytopenie, monocytopenie

Leukocyty – morfologie: blasty mohly být zaměněny za atypické patologické lymfocyty, holá jádra, jaderné stíny, v části buněk vakuolizace

Erytrocyty: anizocytóza

Trombocyty: beze změn

Diagnóza: common B-ALL

Dle cytologie PK přítomno 92 % blastů.

Dle FCM z PK přítomno 85 % blastů s níže uvedených fenotypem.

cyCD3- /smCD3- /CD7- /CD9+ /CD10+ /CD13- /CD15- /CD19+ /CD20+(20 %) /CD22+ /CD24+(60 %) /CD33- /CD34+ /CD38+ / CD45dim /CD66c+(65 %) /cyCD79a+ /CD117- /CD123- /cyIgM- /sIgM- /sIgKappa- /sIgLambda- /NG2- /nuTdT+ /cyMPO-

V souboru vztažných hodnot byly ve srovnání s konsenzem expertů provedeny úpravy:

Lymfocytóza	Nález neuvedl žádný expert, avšak některé laboratoře do této položky zřejmě zařadily lymfoblasty (viz dále), a proto jsme ji akceptovali.
Hypogranularita trombocytů	Popis uvedli jen 2 experti, ale vzhledem k tomu, že v nátěrech byly ojediněle přítomny hypogranulární trombocyty, nález jsme akceptovali.

Výsledky

Leukocyty – rozpočet: Třetina pracovišť řadila blastické elementy mezi atypické/patologické lymfocyty. Toto zařazení nehodnotíme jako chybu. Abychom mohli výsledky vyhodnotit, přičetli jsme všem účastníkům jejich výsledek zastoupení lymfocytů do blastů a lymfocyty jsme vynulovali.

Správné odpovědi byly neutropenie (98 %), lymfocytopenie (63 %), monocytopenie (76 %); Pracoviště, která blasty zařadila mezi atypické lymfocyty, zapsala lymfocytózu (29 %) – akceptováno. V rámci analyzátorového diferenciálu by blasty byly dle velikosti a morfologie zařazeny do lymfocytů. Třeba někdy v blízké budoucnosti budou na trhu analyzátoři, které jako šestou populaci leukocytů v rámci inovativního 6populačního diferenciálu budou počítat blasty.

Leukocyty – morfologie: V nátěru dominovaly lymfoblasty, které byly kolem 16 - 18 µm velké, měly poměrně vysoký nukleocytoplazmatický poměr, jádro oválné, či s členitější konturou (zářezy), většinou kondenzovanější chromatin, jen s naznačenými menšími jádérky, cytoplazma byla agranulární. Při roztěru tyto fragilní buňky vytvořily holá jádra/jaderné stíny (správně uvedlo 98 %). 47 % laboratoří lymfoblasty zařadilo mezi patologické lymfocyty. Dle pokynů do této skupiny zapisujeme *atypické (ve smyslu patologické) formy lymfocytů v rámci hematologických B- a T-lymfoproliferativních onemocnění, např. CLL, PLL, NHL, včetně patologických plazmocytů, kromě vlasatých lymfocytů*. Nález jsme akceptovali (viz výše). V části buněk byla patrná vakuolizace (44 %) a agranulace (13 %) – akceptováno. Chybné nálezy byly pouze ojedinělé. Zcela nepochopitelný je údaj tří pracovišť, že morfologie je beze změn, příp. čtyř pracovišť, která popsala reaktivní lymfocyty.

DIF2/24: Hodnocení nátěru periferní krve

Erytrocyty: Anizocytóza (správně uvedlo 95 %) byla dost zřetelná přesto, že hodnota RDW není významně zvýšená. Akceptovali jsme sférocyty (17 %, některé laboratoře je identifikují prakticky v každém nátěru), dakryocyty (18 %). Chybné odpovědi (např. normocytóza (6 %), stomatocyty (5 %) nebo beze změn) uváděly jen jednotky účastníků.

Trombocyty: Byly beze změn (74 %), akceptovali jsme hypogranularitu trombocytů (21 %).

Klinické doporučení: I přesto, že tři pracoviště nenalezla v leukocytech patologii, 100 % laboratoří správně napsalo, že nátěr je patologický a že doporučují vyšetření specialistou.

Odhad diagnózy: 41 % správně uvedlo akutní leukémie blíže neurčená, 38 % leukémie lymfoblastická a 6, 8 % AML – tyto dvě diagnózy jsme akceptovali. Chybné odpovědi: 16 % uvádí neoplazii ze „zralých“ lymfoidních buněk blíže neurčenou, 6,8 % CLL a 1,4 % PLL (pokud by vzorek poslali na flowcytometrii, tak by si diagnózu korigovali), ale 47 % účastníků zapsalo atypické formy lymfocytů. Důvodem bylo možná to, že položka „blasty“ v pokynech chybí, doplníme jí tam. Morfologie blastických buněk ale zralé lymfoproliferaci neodpovídá. Zcela chybné byly popisné termíny ze změn krevního obrazu, a to anémie a trombocytopenie, které často akutní leukémie z důvodu infiltrace dřeně nádorovou masou doprovází, ale diagnostická je přítomnost blastů.

Technika nátěru vyhovovala všem účastníkům a **obarvení** vyhovovalo také všem účastníkům.

Vzorek B

Žena 77 let, 20 let sledována v hematologické ambulanci. Před 10 lety zahájena léčba ruxolitinibem. Nyní 4 roky již bez léčby a bez nutnosti transfuzí. Klinicky: bledý kolorit kůže, slezina +9 cm pod žeberní oblouk	KO v den odběru pro přípravu nátěrů pro cyklus EHK: Leukocyty 13,3 · 10 ⁹ /L Erytrocyty 3,35 · 10 ¹² /L Hemoglobin 97 g/L Hematokrit 0,292 MCV 87,2 fL Trombocyty 306 · 10 ⁹ /L MCH 29,0 pg MCHC 332 g/L RDW 18,0 %
--	---

Leukocyty – rozpočet: lymfocytopenie, neutrofilie – posun doleva, bazofilie

Leukocyty – morfologie: vakuolizace, místy hypogranulace a zároveň agranulace, jinak beze změn

Erytrocyty: anizocytóza, eliptocyty/ovalocyty, dakryocyty, polychromázie, bazofilní tečkování, místy schistocyty

Trombocyty: makrotrombocyty, hypogranularita

Diagnóza: primární myelofibróza (PMF), s mutací JAK2, v cytogenetice normální nález

V souboru vztažných hodnot byly ve srovnání s konsenzem expertů provedeny úpravy:

Hypergranulace	Popis uvedli 2 experti, vzhledem k tomu, že v nátěrech byla směs hyper – ale i agranulárních neutrofilů, nález jsme akceptovali.
Agranulace	Popis uvedli 2 experti, vzhledem k tomu, že v nátěrech byla směs hyper – ale i agranulárních neutrofilů, nález jsme akceptovali.
Sférocyty	Popis uvedli 2 experti, vzhledem k tomu, že v nátěrech byly ojediněle přítomny sférocyty, nález jsme akceptovali.
Části jader megakaryocytů	Na některých sklech mohly v rámci dg. PMF být přítomny fragmenty jader megakaryocytů (bývají rozloženy dosti nerovnoměrně). I když nález neuvedl žádný expert, byl akceptován.

Výsledky

Leukocyty – rozpočet: Správné nálezy byly lymfocytopenie (96 %), neutrofilie (85 %), posun doleva (97 %) a bazofilie (60 %).

Leukocyty – morfologie: Akceptovali jsme vakuolizaci (21 %), ale i údaj beze změn (45 %). V nátěrech byla v rámci choroby přítomna populace hypergranulárních (uvedlo 16 %), ale i agranulárních (uvedlo 10 %) neutrofilů, oba popisy jsme tedy akceptovali. Ostatní nálezy byly chybné (např. hypersegmentace nebo holá jádra).

Erytrocyty: Byly typicky pro dg. PMF patologické: anizocytóza (98 %), eliptocyty/ovalocyty (94 %), dakryocyty (95 %), polychromázie (89 %), bazofilní tečkování (78 %), schistocyty (35 %). Akceptovali jsme poikilocytózu (31 %), stomatocyty (27 %), sférocyty (23 %).

Trombocyty: Makrotrombocyty správně uvedlo 92 %. Akceptovali jsme hypogranularitu (37 %) a části jader megakaryocytů (6 %), které v rámci dg. PMF můžeme v nátěru krve vidět.

Klinické doporučení: 100 % laboratoří správně napsalo, že nátěr je patologický a že doporučují vyšetření specialistou.

Odhad diagnózy: 75 % správně uvedlo myelofibrózu, což je skvělý odhad diagnózy. Rovněž myeloproliferace, kterou blíže nelze určit (30 %), je velmi dobrý odhad diagnózy. Nejedná se ani o AML (kde jsou blasty?), ani o popisné

DIF2/24: Hodnocení nátěru periferní krve

změny v hodnotách krevního obrazu. Jeden účastník se domnívá, že změny patří k virové infekci (a kde je lymfocytóza v rámci virových onemocnění?).

Technika nátěru vyhovovala 99 % účastníků a **obarvení** vyhovovalo všem účastníkům.

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*.

Bodové hodnocení výsledků účastníků

V tomto programu používáme systém hodnocení, kdy všichni účastníci, kteří dosáhli alespoň 60 % maximálního možného počtu bodů, jsou hodnoceni jako úspěšní. Podrobný popis je k dispozici na webu (oddíl *Infoservis*, sekce *DIF*).

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, že účastník má hodnocen nález nějakého znaku jako chybný, i když na jeho skle prokazatelně byl zastížen (a třeba i na několika dalších sklech). Podstatné je to, že znak nebyl přítomen na většině skel, jednalo se tedy o náhodný nález.

Námítka, že to je nespravedlivé nebo nepřijatelné, je v rámci daného modelu hodnocení irelevantní. Abychom uvedený „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.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	Dostávají účastníci, kteří uvedli výsledky.
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.

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.