

**DIF3/24: 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 127 laboratoří, z toho 18 ze Slovenska.

**Vzorek A**

Žena 59 let, vyšetřena praktickým lékařem pro opakované infekce horních cest dýchacích a celkovou slabost a únavu. Klinicky: bez potíží Sono břicha: mírně zvětšená játra, uzliny nezvětšeny	KO v den odběru pro přípravu nátěrů pro cyklus EHK: Leukocyty 6,06 · 10 <sup>9</sup> /L Erytrocyty 4,38 · 10 <sup>12</sup> /L Hemoglobin 148 g/L Hematokrit 0,419 MCV 95,7 fL Trombocyty 184 · 10 <sup>9</sup> /L MCH 33,8 pg MCHC 353 g/L RDW 13,7 %
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Leukocyty – rozpočet: lymfocytóza, neutropenie, hraniční monocytopenie

Leukocyty – morfologie: i když ne četné, ale přítomny typické „vlasaté lymfocyty“, jaderné stíny

Erytrocyty: na většině nátěrů beze změn nebo pouze ojedinělé odchylky, oj. ale byla i Howell-Jollyho tělíska – viz foto – otázkou je, zda by početně splňovala *Pokyny pro zápis výsledků*: uvádět je, pokud nejdeme alespoň 2 na 1000 erytrocytů.

Trombocyty: většinou beze změn

Diagnóza: vlasatobuněčná leukémie – HCL, potvrzeno FCM 6,87 % z leukocytů

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

<b>Monocytopenie</b>	Nález uvedli 2 experti, ale početně rozsah zasahuje až k 0 (a jedná se i o typický znak onemocnění), proto nález akceptován.
<b>LGL formy lymfocytů</b>	Nález uvedli 2 experti, akceptovali jsme jej – viz níže.

**Výsledky**

**Leukocyty – rozpočet:** Patologická lymfocytóza nedělala problém (98 %) stejně jako neutropenie (91 %). Přestože řada pracovišť měla nízké monocyty, tak monocytopenii, která doprovází onemocnění a je jedním z typických znaků rozpočtu, uvedlo jen 17 % účastníků – někteří ale uvedli i vyšší počty – 2 pracoviště dokonce nad 0,075 – otázkou je, zda do těchto buněk nezařadili i patologické lymfocyty.

**Leukocyty – morfologie:** Přítomné typické „vlasaté lymfocyty“ uvedlo pouze 61 % laboratoří. 31 % chybně uvedlo atypické lymfocyty (v *Pokynech pro zápis výsledků* je ale jasně uvedeno – kromě „vlasatých“) – smutné je, že toto se týká i dvou expertních pracovišť. Jaderné stíny z patologických lymfocytů správně uvedlo 80 % účastníků. Celková populace lymfocytů v nátěru zahrnovala nečetně vlasaté lymfocyty (do 10 %), aktivované lymfocyty, a to jak reaktivní formy (61 %), tak i LGL formy (28 %), které jsme nakonec akceptovali. Chybně je ale to, že některá pracoviště uvedla všechny varianty – ať už reaktivních/LGL forem, tak vlasatých/atypických lymfocytů. Vakuolizace (11 %) nebyla výrazným znakem, akceptováno.

A trocha opakování: *Vlasaté buňky jsou asi 1,5 až 2krát větší než lymfocyty. Jádro mají oválné, ledvinovité, ale také monocytoidní, jetelovité či prsténčité, většinou mírně excentricky uložené. Chromatin jádra je jemnější a síťovitý, jádro je většinou bez jadérka. Buňky mají šedomodrou, prostornou cytoplazmu bez granul, v okrajích roztrěpenou či vyběhající v jemné výběžky po celém obvodu buňky.* Podívejte se na fotky na webu, typický vlasatý lymfocyt je na obr. A1; na A4, A5 a A10 mají lymfocyty méně cytoplazmy, ale struktura chromatinu odpovídá popisu.

**Erytrocyty:** Beze změn správně uvedlo 65 %. Někteří účastníci chybně uváděli pouze ojedinělé odchylky – stomatocyty 15 %, dakryocyty (8,7 %), terčovité (9,4 %), polychromázie 7,9 % – v každém nátěru můžeme ojediněle najít změny, které ale máme zaznamenat pouze při větším výskytu, s výjimkou např. Howel-Jollyho tělísek (4 %) – z uvedeného vyplývá, že nemohla být akceptována ani normocytóza (33 %); sice ji účastníci uvedli „správně“ v kontextu s nalezenými odchylkami, tyto ale spadaly do náhodných nálezů.

**Trombocyty:** Byly beze změn (46 %), ojediněle byly přítomny makrotrombocyty (51 %) – akceptováno.

**DIF3/24: Hodnocení nátěru periferní krve**

**Klinické doporučení:** Nátěr je jednoznačně patologický – to ale popsalo jen 82 % účastníků, ostatní (17 %) uvádějí jen „reaktivní změny“, což je bohužel v rámci tohoto hematologického onemocnění chybný závěr. Samozřejmě je pacientka k odeslání na hematologické pracoviště – to uvedlo pouze 77 % – a to by mohl být problém, toto onemocnění je nutné sledovat na specializované hematologické ambulanci a dle stavu onemocnění ev. zahájit léčbu.

**Odhad diagnózy:** Správně 44 % uvedlo diagnózu HCL, 25 % popsalo blíže neurčenou neoplazii ze „zralých“ lymfoidních buněk – tj. vzorek by odeslali na flowcytometrii a diagnózu by měli hned. Chybný byl názor, že se jedná o virovou infekci (18 %) či jiné reaktivní změny (31 %). Jen připomínáme, že řada účastníků uvedla dvě diagnózy, tj. součet procentuálních podílů odpovědí v závorkách není 100. Za tragický omyl považujeme názor dvou laboratoří, že se jedná o fyziologický nátěr.

**Technika nátěru** vyhovovala všem účastníkům a **obarvení** vyhovovalo 95 % účastníků.

**Vzorek B**

Muž 68 let. Pacient hospitalizován na interním oddělení pro polyserositidu, kde byla zahájena kortikoterapie s dobrou tolerancí.	KO v den odběru pro přípravu nátěrů pro cyklus EHK: Leukocyty 19,8 · 10 <sup>9</sup> /L Erytrocyty 3,78 · 10 <sup>12</sup> /L Hemoglobin 133 g/L Hematokrit 0,408 MCV 107,9 fL Trombocyty 505 · 10 <sup>9</sup> /L MCH 35,2 pg MCHC 326 g/L RDW 13,3 %
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Leukocyty – rozpočet: neutrofilie s posunem doleva, lymfocytopenie

Leukocyty – morfologie: hypersegmentace neutrofilů, v části jemná vakuolizace

Erytrocyty: makrocytóza, místy ovalocyty, v některých nátěrech i četnější schistocyty

Trombocyty: makrotrombocyty

Diagnóza: jiné reaktivní změny

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

<b>Vakuolizace</b>	Popis uvedlo 7 expertů, ale vzhledem k tomu, že vakuolizace byla jemná a nemusela být místy jasně odlišitelná, nález jsme jen akceptovali.
<b>Schistocyty</b>	Nález uvedlo 6 expertů, ale vzhledem k tomu, že na řadě sklíček nemusel být naplněn doporučený počet schistocytů (alespoň 10 na 1000 erytrocytů), nález jsme jen akceptovali.
<b>Klinické doporučení</b>	I když se 6 expertů označilo, že je nátěr fyziologický, a 7 expertů by nedoporučilo vyšetření na hematologii, byly oba názory jen akceptovány – viz níže.

**Výsledky**

**Leukocyty – rozpočet:** Určení neutrofilie a lymfocytopenie nedělalo problém (99, resp. 97 %); s posunem doleva už to tak jednoznačné nebylo – zaznamenalo jej 70 % laboratoří.

**Leukocyty – morfologie:** 96 % správně popsalo hypersegmentaci neutrofilů. Jemnou vakuolizaci v části buněk uvedlo 31 % (akceptováno). V nátěru nebyla hypergranulace (10 %), ani četnější holá jádra (9,4 %) či reaktivní lymfocyty (7,9 %).

**Erytrocyty:** 98 % správně uvedlo makrocytózu. Akceptovány byly schistocyty (43 %) a ovalocyty (28 %). V nátěrech nebyly četnější echinocyty (11 %, snad mohly být místy), z chybných ostatních nálezů byly nejčetnější (každý 8,7 %) poikilocytóza, sférocyty, dakryocyty.

**Trombocyty:** Makrotrombocyty správně popsalo 58 %, akceptovali jsme beze změn (35 %). Nebyly přítomny destičkové shluky (16 %).

**Klinické doporučení:** Nátěr není fyziologický (že je patologický uvedlo 76 %) a je otázkou, zda se jedná jen o reaktivní změny (jak uvedlo 52 % níže u odhadu diagnózy). V tomto případě je na rozhodnutí klinika, zda změny přičte chronickému onemocnění a léčbě, nebo zda se bude chtít přesvědčit, že paralelně neběží další onemocnění (leukocytóza s posunem doleva a hypersegmentace, trombocytóza, anémie – myeloproliferativní onemocnění typu CML?) – proto jsme akceptovali obě odpovědi u hodnocení nátěru (nátěr je patologický i ve fyziologických mezích / nátěr s reaktivními změnami) stejně jako doporučení k vyšetření specialistou hematologem (54 % doporučuje, 46 % nedoporučuje).

**DIF3/24: Hodnocení nátěru periferní krve**

**Odhad diagnózy:** 52 % uvedlo jiné reaktivní změny a 41 % jiné onemocnění, teoreticky nelze vyloučit myeloproliferativní neoplazii (celkem uvedlo cca 13 %).

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

**Metodické poznámky****Zápis výsledků**

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](http://www.sekk.cz) v oddíle *Infoservis* v sekci *DIF*.

**Vztažné hodnoty (očekávané výsledky) a bodové hodnocení výsledků účastníků**

Vztažné hodnoty jsou v programu DIF určovány na základě konsenzu 10 expertních pracovišť.

V programu používáme systém hodnocení, kdy pro dosažení úspěšného hodnocení u jednotlivého vzorku je nutné dosáhnout alespoň 60 % maximálního možného počtu bodů. Celkově je účastník hodnocen jako úspěšný jestliže uspěje u obou vzorků.

Pravidla pro určování konsenzu expertů a pro bodové hodnocení výsledků účastníků najdete na [www.sekk.cz](http://www.sekk.cz) v oddíle *Infoservis* v sekci *DIF* v dokumentu *Určování vztažných hodnot a bodové hodnocení výsledků*.

**Eliminace náhodných nálezů**

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 zastižen (a třeba i na 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 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](mailto:matyskova.miloslava@fnbrno.cz)

MUDr. Dana Mikulenková  
ÚHKT, Morfologicko – cytochemická laboratoř  
U Nemocnice 1  
128 20 Praha 2  
e-mail: [dana.mikulenkova@uhkt.cz](mailto:dana.mikulenkova@uhkt.cz)

**Přílohy**

Jako přílohu této zprávy jednotliví účastníci cyklu dále dostávají:

<b>Název přílohy</b>	<b>Poznámka</b>
Osvědčení o účasti	Dostávají účastníci, kteří splnili podmínky pro jeho vystavení.
Výsledkový list	Dostávají účastníci, kteří uvedli výsledky.
Histogramy	Pro kvantitativní výsledky diferenciálního rozpočtu leukocytů.
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 pro potřebu účastníka.

**Další informace**

Závěrečná zpráva s výjimkou příloh je veřejná. Jak účastníkům, tak ostatním odborníkům, jsou na adrese [www.sekk.cz](http://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.