

T13/24: Imunofenotypizace (studie)

Technicky byla studie realizována jako cyklus T13/24, který běžel paralelně s cyklem IFT2/24.

Cíl

Tato studie volně navazuje na studii T05/24 (výsledky jsou k dispozici na webu). V rámci studie jsme testovali možnost měřit nové populace buněk ve vzorcích, které účastníci obdrží pro cyklus IFT2/24. V závislosti na počtu a kvalitě výsledků a následných konzultací s výborem SLI ČSAKI rozhodneme, zda některé nové zkoušky zařadit do EHK jako standardní součást programu IFT.

Seznam zkoušek zařazených do studie:

- B lymfocyty (CD5+CD19+)
- Izotypově přepnuté paměťové B lymfocyty (CD19+CD27+IgD-)
- Naivní B lymfocyty (CD19+CD27-IgD+)
- Aktivované T lymfocyty (HLA-DR+)
- gamma-delta T lymfocyty (CD3+TcR $\gamma\delta$ +))
- T regulační lymfocyty (CD3+CD4+CD25+CD127low)

Na rozdíl od volněji uspořádané studie T05/24 jsme:

- požadovali, aby účastníci zadávali výsledky pouze v relativních jednotkách, tedy v %
- a pro každou populaci buněk byl předepsaný způsob značení.

Vzorky

Vzorky byly shodné s cyklem IFT2/24.

Komentář supervizora

Studie se zúčastnilo 46 pracovišť, z toho 13 ze Slovenska.

Vztažné hodnoty byly určeny jako robustní průměry výsledků účastníků.

Podobně jako v první studii jsme u většiny zkoušek získali velice rozptýlené výsledky (CV v některých případech překročil 100 %). Proto jsme pro jednotlivé zkoušky nastavili D_{\max} na dvojnásobek CV (resp. průměru CV obou vzorků) s omezením na maximální velikost $D_{\max} = 100$ %.

S ohledem na enormní rozptyl výsledků zmíněný výše je třeba zpracování výsledků považovat spíše za demonstraci nesrovnatelnosti výsledků měření než za jejich hodnocení odpovídající obvyklému rámci EHK. V několika případech bylo možné výsledky účastníků zobrazit v Youdenově grafu jen za cenu toho, že byl D_{\max} nastaven na 100 %. Podrobněji se jednotlivým zkouškám věnují následující odstavce.

B lymfocyty (CD5+CD19+)

Velmi rozptýlené výsledky přibližně od 1 do 30 % u obou vzorků. Problematické a v podstatě nemožné hodnocení.

Izotypově přepnuté paměťové B lymfocyty

Vzorek A: Až na silně vybočující výsledek jednoho účastníka (uvedl 23 %) jsou ostatní výsledky (pohybovaly se v intervalu 11 až 15,7 %) vcelku přijatelné.

Vzorek B: Stejný účastník jako u vzorku A i zde vydal nesrovnatelně vyšší výsledek (uvedl 12,3 %) než ostatní. Ovšem i ostatní výsledky vykazovaly enormní rozptyl (od 0 do 5,6 %), což by bylo možné vysvětlit vysokou nejistotou při měření malého počtu buněk (cca 1 %). I přes vysoký rozptyl výsledků lze říci, že většina účastníků se zde shodla na abnormálním rozložení B lymfocytů, které odpovídá diagnóze COVID.

Naivní B lymfocyty

Jediná zkouška, kde byly výsledky u obou vzorků přijatelné a racionálně hodnotitelné. CV se pohyboval u obou vzorků pod 10 %. Avšak i zde 2 účastníci naměřili velmi odlehlé výsledky (odchylka přibližně -50 % proti konsenzu). Bohužel měření této populace provedlo nejméně účastníků (jen 13).

Aktivované T lymfocyty (HLA-DR+)

Velmi rozptýlené výsledky přibližně od 1 do 20 % u obou vzorků. Problematické a v podstatě nemožné hodnocení.

gamma-delta T lymfocyty (CD3+TcR $\gamma\delta$ +))

Vzorek A: Většina výsledků v zásadě přijatelná (mezi 6 a 11 %), avšak některé výsledky byly velmi odlehlé (nejnižší byl 2,62 a nejvyšší 19,2 %).

Vzorek B: Jeden účastník zde vydal nesrovnatelně vyšší výsledek (uvedl 13,4 %) než ostatní. Ovšem i ostatní výsledky vykazovaly enormní rozptyl (od 0,3 do 7,1 %), což by bylo možné vysvětlit vysokou nejistotou při měření malého počtu buněk (cca 2 %).

T13/24: Imunofenotypizace (studie)**T regulační lymfocyty**

Velmi rozptýlené výsledky přibližně od 1 do 10 % u obou vzorků. Problematické a v podstatě nemožné hodnocení.

Vliv použitých systémů/reagensů

Zabývali jsme se rovněž výsledky rozděleními podle výrobců reagensů. Ovšem i uvnitř těchto homogenních skupin byly výsledky prakticky stejně rozptýlené jako v celkovém souboru. Jako příklad můžeme uvést B lymfocyty (CD5+CD19+) ve vzorku A, kde se výsledky ve skupině Beckman Coulter (R = 12), v níž bylo 15 účastníků, pohybovaly od 0,5 od 31,5 %.

Počty laboratorních vyšetření

K jednotlivým zkouškám jsme připojili dotaz na počet vyšetření, která jednotliví účastníci provádějí za jeden rok. Získali jsme tyto odpovědi:

Zkouška	Počet vyšetření za rok		
	minimum	průměr	maximum
B lymfocyty (CD5+CD19+)	10	620	2000
Izotypově přepnuté paměťové B lymfocyty (CD19+CD27+IgD-)	3	290	2000
Naivní B lymfocyty (CD19+CD27-IgD+)	3	290	2000
Aktivované T lymfocyty (HLA-DR+)	10	1000	5000
gamma-delta T lymfocyty (CD3+TcR $\gamma\delta$ +))	20	560	2000
T regulační lymfocyty (CD3+CD4+CD25+CD127low)	10	350	2000

K zamyšlení je, zda má smysl zavést a udržovat v laboratoři metodu, která je využita v jednotkách případů za rok.

Závěr

Výsledky měření zůstaly velmi špatné i poté, co jsme se pokusili zúžením volnosti účastníků (byly předepsány nejenom jednotky, ale také způsoby značení) mimořádně rozptýlené, s jedinou výjimkou, kterou byly naivní B lymfocyty.

Dosažené výsledky projednáme se zástupci odborné společnosti, zatím však nic nenasvědčuje tomu, že by populace zařazené do studie bylo možné doplnit do programu IFT.

Jakkoli nás mrzí, že výsledky byly opakovaně tak špatné, jedná se o zajímavou a cennou informaci, kterou odborná veřejnost touto cestou získala.

Odborná supervize: Mgr. Karolína Jankovičová, Ph.D.
Fakultní nemocnice Hradec Králové
Ústav klinické imunologie a alergologie
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: karolina.jankovicova@fnhk.cz

MUDr. Helena Posová, CSc.
1. LF UK a VFN
KIA laboratoř ÚLBLD
Karlovo náměstí 32
121 11 Praha 2
e-mail: hmare@lf1.cuni.cz

Přílohy (k dispozici **pouze** v aplikaci Cibule)

Jako přílohu této zprávy jednotliví účastníci cyklu, kteří uvedli výsledky, získávají:

Název	Dostupnost
Osvědčení o účasti Výsledkový list	Je třeba splnit podmínky pro vystavení příslušných dokumentů uvedené v Plánu EHK.
Souhrnné přehledy kvantitativních výsledků	Zahrnují grafický přehled výsledků ve formě komplexní statistiky (ta obsahuje pro každou zkoušku Youdenův graf nebo histogramy, přehled P-skóre za 2 roky a souhrnnou statistiku v grafické podobě). Dále má účastník k dispozici samostatné grafické přehledy výsledků (části komplexní statistiky) takto: Youdenovy grafy, histogramy a souhrnnou statistiku v grafické podobě.

Přílohy jsou identifikovány svým názvem, označením cyklu a kódem účastníka a jsou určeny pro potřebu účastníka. Jestliže jste v tomto cyklu zadali výsledky, pak své individuální vyhodnocení (zprávy) naleznete v aplikaci **Cibule** (<https://www.eqa.cz/cibule>). Po přihlášení zvolte v menu **Výsledky EHK - Prohlížení** a potom klepněte na tlačítko **Zprávy** pro příslušný cyklus.

T13/24: Imunofenotypizace (studie)

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.
- Kritéria (D_{max}) pro hodnocení kvantitativních výsledků.
- 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.