

# **Závěrečná zpráva Zkoušení způsobilosti pro oblast kvantitativního vyšetření buněčného chimerizmu po alogenní transplantaci krvetvorných buněk pro rok 2018**

## **Varianty:**

1. **Základní** – obsahuje vzorek DNA příjemce, dárce a 5 kvantifikačních vzorků
2. **Rozšířená** – obsahuje vzorek DNA příjemce, dárce a 10 kvantifikačních vzorků

## **Materiál:**

DNA izolované z buffycoatů dle přílohy č. 01 SOP 01

**příjemce - X188**

**dárce - X187**

**3TP** – X188/X187 na očekávaných 2 % genotypu příjemce

**4TP** – X188/X187 na očekávané 0,4 % genotypu příjemce

**5TP** – X188/X187 na očekávaných 0 % genotypu příjemce

**6TP** – X188/X187 na očekávaných 40 % genotypu příjemce

**7TP** – X188/X187 na očekávaných 95 % genotypu příjemce

**8TP** – X188/X187 na očekávaných 65 % genotypu příjemce

**9TP** – X188/X187 na očekávaných 15 % genotypu příjemce

**10TP** – X188/X187 na očekávané 6 % genotypu příjemce

**11TP** – X188/X187 na očekávaných 1 % genotypu příjemce

**12TP** – X188/X187 na očekávaných 0 % genotypu příjemce

## **Problematikou kola bylo:**

1. Vyšetření informativity (určení referenčních alel) na základě vyšetření vzorků DNA pacienta před aHSCT (vzorek 1P) a jeho dárce HSC (vzorek 2D) – 2 vzorky – **nepovinná část**
2. Kvantitativní vyšetření chimerizmu stejného pacienta ve 5 obdobích (rozšířená varianta 10 obdobích) po aHSCT na základě vybraného (ných) DNA polymorfizmu (ů), resp. i sex specifických lokusů – 5 vzorků (rozšířená varianta 10 vzorků) včetně interpretace – **povinná část**

## **Zúčastněné laboratoře:**

### Tuzemští účastníci:

Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN Hradec Králové

Laboratoř molekulární genetiky, Hematologicko-onkologické oddělení FN Plzeň

Laboratoř molekulární biologie, HOK FN Olomouc

### Zahraniční účastníci:

Laboratory of Department of Transplantation, University Children's Hospital of Cracow, Krakow, Polsko

Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky, Pracovisko genetickej diagnostiky Detskej kliniky LFUK a NÚDCH, Národný ústav detských chorôb, Bratislava, Slovenská republika

NZOZ Medigen Diagnostyka Molekularna, Warszawa, Polsko

Laboratory of Molecular Genetics, Central Hospital of Southern Pest, National Institute of Hematology and Infectious Diseases, Budapest, Maďarsko

Dolnośląskie Centrum Transplantacji Komórkowych z Krajowym Bankiem Dawców Szpiku, Lower Silesian Center for Cellular Transplantation and National Bone Marrow Donor Registry, Wrocław, Polsko

Molecular Biology, Immunophenotyping and Pathology, Laboratory of Regional Children's Hospital #1, Ekaterinburg, Rusko

Bone Marrow Transplant Unit Laboratory, Aghia Sophia Children's Hospital, Athens, Řecko

Tissue Typing Laboratory, Gayrettepe Florence Nightingale Hospital, Istanbul, Turecko

SBT laboratory, İstanbul Tıp Fakültesi Temel Bilimler Binası, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Doku tipleme laboratuvarı, Istanbul, Turecko

Molecular Biology Laboratory, Department of Hematology-Lymphomas and BMT Unit, Athens, Řecko

Celkově se účastnilo 13 laboratoří (označení účastníků A až M) – 4 v základní variantě, 9 ve variantě rozšířené + organizátor.

### Výsledky:

Nepovinné části, vyšetření informativity, se zúčastnilo celkem 7 laboratoří.

Výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí mediánu získaných hodnot a směrodatné odchylky.

Směrodatná odchylka byla určena na základě statistického zpracování výsledků z předchozích let EPT (rozptyl hodnot, regrese) a přepočítána na hodnotu Z-score (čím je hodnota blíže nule, tím je výsledek správnější). Přehled je uveden v *Tabulce 1*.

### Statistické hodnocení:

Hodnocení dle Z-skóre:  $[z] \leq 1$  výborné,  $1 < [z] \leq 2$  dobré,  $2 < [z] \leq 3$  akceptovatelné a  $[z] > 3$  kritické. V případě, že očekávaná hodnota je pod limit laboratoře (nižší, než je udaná citlivost metody účastníka), hodnota není považována za chybnou, ale je zařazena do kategorie Pod limit laboratoře.

**Celkově bylo 64 % výsledků v kategorii Výborné, 11 % v kategorii Dobré, 6 % v kategorii Akceptovatelné, 8 % v kategorii Kritické a 11 % v kategorii Pod limit laboratoře.**

Dále byly výsledky jednotlivých účastníků hodnoceny podle percentilů. Graf znázorňující percentily (25%, 50%, 75% a 100%) ukazuje úspěšnost všech účastníků navzájem. Vzhledem k nabídce 2 variant (základní a rozšířená) účastník základní varianty obdržel 1 a rozšířené varianty 2 grafy. První graf porovnává 5 kvantifikačních vzorků (3TP – 7TP) všech účastníků letošního kola, druhý graf pak všech 10 vzorků (3TP – 12TP), ale pouze u laboratoří účastníků se rozšířené varianty.

Čím má účastník nižší percentil, tím je v porovnání s ostatními laboratořemi úspěšnější. Výsledky jsou uvedeny v *Grafu 1*.

Přehled použitých metod pro kvantitativní vyšetření buněčného chimerizmu a jejich citlivosti a interpretace jsou uvedené v *Tabulce 2* Přehled použitých metod všech účastníků – kvantitativní vyšetření buněčného chimerizmu 2018.

### Nejčastější chyby, eventuelně doporučení:

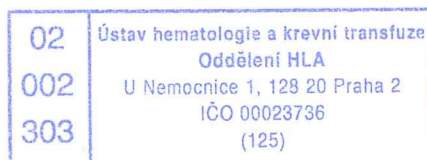
- Falešná negativita – použití méně citlivých polymorfizmů (typu VNTR) pro kvantifikaci.
- Falešná pozitivita – detekován smíšený chimerizmus ve vzorku, kde byla přítomná pouze DNA dárce.
- Nevhodný výběr polymorfizmu pro kvantifikaci (o repetici kratší – tzv. stutter peak).

Na základě připomínek některých účastníků bude v příštím roce lépe specifikována kategorie Pod limit laboratoře a bude dodáno celkové vyhodnocení, například splněno 10/10 nebo splněno 8/10 zaslaných vzorků.

Zpracovala: Mgr. Hana Čechová



V Praze dne 11.9.2018



# Tabulka 1.

Porovnání všech účastníků pro rok 2018

očekávané hodnoty*	2% (3TP)	0,4% (4TP)	0% (5TP)	40% (6TP)	95% (7TP)	65% (8TP)	15% (9TP)	6% (10TP)	1% (11TP)	0% (12TP)
organizátor	2,301	0,332	0,000	40,259	95,243	68,084	14,944	6,238	0,987	0,000
laboratoř A	4,000	0,500	0,000	42,000	95,000					
laboratoř B	3,600	1,000	0,000	50,100	96,300					
laboratoř C	2,800	0,700	0,000	43,200	94,800	66,600	17,500	7,000	1,400	0,000
laboratoř D	0,000	0,000	0,000	44,000	100,000					
laboratoř E	2,300	0,500	0,000	44,000	92,000					
laboratoř F	0,000	0,000	0,000	11,000	78,000	28,000	3,000	1,000	0,000	0,000
laboratoř G	2,000	0,500	0,000	45,000	94,000	64,000	18,000	8,000	1,000	0,000
laboratoř H	4,000	1,000	0,000	53,000	97,000	71,000	22,000	8,000	2,000	0,000
laboratoř I	3,000	2,000	0,000	40,000	93,000	62,000	16,000	7,000	3,000	0,000
laboratoř J	2,500	0,500	0,000	41,000	95,000	64,000	16,500	7,000	1,000	0,000
laboratoř K	1,000	2,000	3,000	45,000	95,000	67,000	24,000	16,000	2,000	1,000
laboratoř L	0,000	0,000	0,000	44,400	99,900	62,300	16,600	10,400	0,000	0,000
laboratoř M	1,200	0,000	0,000	42,500	95,500	64,500	17,000	6,200	0,300	0,000

medián	2,30	0,50	0,00	43,60	95,00	64,25	16,80	7,00	1,00	0,00
směrodatná odchylka**	0,68	0,44	0,37	4,55	3,45	5,03	2,43	1,27	0,53	0,37

Z score ***	2% (3TP)	0,4% (4TP)	0% (5TP)	40% (6TP)	95% (7TP)	65% (8TP)	15% (9TP)	6% (10TP)	1% (11TP)	0% (12TP)
organizátor	0,00	-0,38	0,00	-0,73	0,07	0,76	-0,76	-0,60	-0,02	0,00
laboratoř A	2,50	0,00	0,00	-0,35	0,00					
laboratoř B	1,91	1,14	0,00	1,43	0,38					
laboratoř C	0,73	0,45	0,00	-0,09	-0,06	0,47	0,29	0,00	0,75	0,00
laboratoř D	-3,38	-1,14	0,00	0,09	1,45					
laboratoř E	0,00	0,00	0,00	0,09	-0,87					
laboratoř F	-3,38	-1,14	0,00	-7,16	-4,93	-7,21	-5,68	-4,72	-1,89	0,00
laboratoř G	-0,44	0,00	0,00	0,31	-0,29	-0,05	0,49	0,79	0,00	0,00
laboratoř H	2,50	1,14	0,00	2,07	0,58	1,34	2,14	0,79	1,89	0,00
laboratoř I	1,03	3,41	0,00	-0,79	-0,58	-0,45	-0,33	0,00	3,77	0,00
laboratoř J	0,29	0,00	0,00	-0,57	0,00	-0,05	-0,12	0,00	0,00	0,00
laboratoř K	-1,91	3,41	8,11	0,31	0,00	0,55	2,96	7,09	1,89	2,70
laboratoř L	-3,38	-1,14	0,00	0,18	1,42	-0,39	-0,08	2,68	-1,89	0,00
laboratoř M	-1,62	-1,14	0,00	-0,24	0,14	0,05	0,08	-0,63	-1,32	0,00

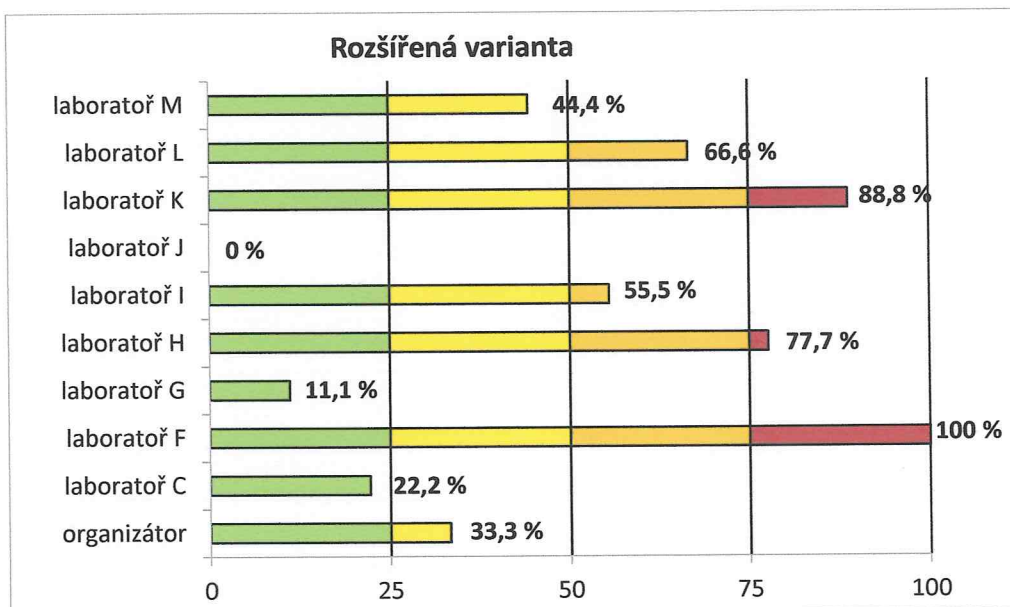
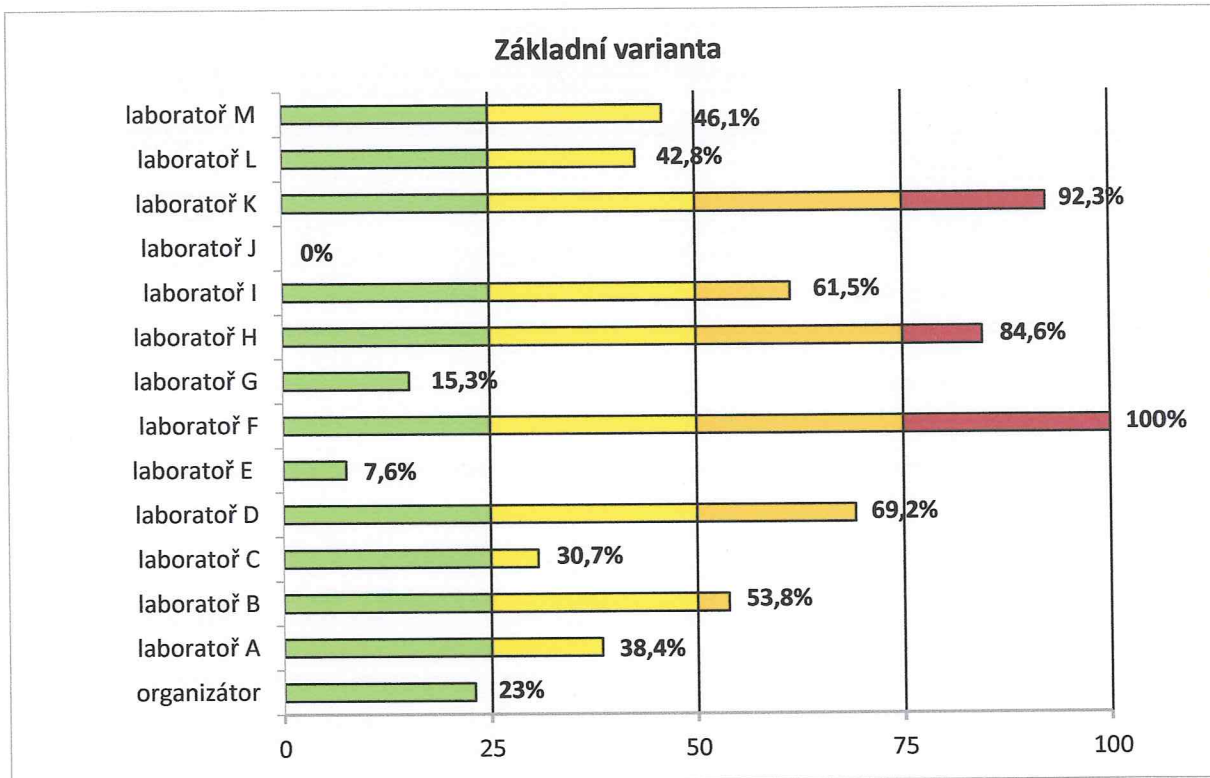


\* Očekávané hodnoty jsou uváděné jako % genotypu příjemce.

\*\* Směrodatná odchylka byla určena na základě statistického zpracování výsledků z předchozích let EPT (rozptyl hodnot, regrese).

\*\*\* Směrodatná odchylka přepočítána na hodnotu Z score (čím je hodnota blíže nule, tím je výsledek správnější).

# Graf 1.



Graf znázorňující percentily (25%, 50%, 75% a 100%) ukazuje úspěšnost všech účastníků navzájem. Vzhledem k nabídce 2 variant (základní a rozšířená) obdrží účastník základní varianty 1 a rozšířené varianty 2 grafy. První graf porovnává 5 kvantifikačních vzorků (3TP – 7TP) všech účastníků letošního kola, druhý graf pak všech 10 vzorků (3TP – 12TP), ale pouze u laboratoří účastníků se rozšířené varianty.

Čím má účastník nižší percentil, tím je v porovnání s ostatními laboratořemi úspěšnější.

Např. 23% percentil v základní variantě znamená, že 77 % účastníků (10 laboratoří) dosáhlo horších výsledků.

# Tabulka 2.

## Přehled použitých metod všech účastníků - kvantitativní vyšetření buněčného chimerizmu 2018

	organizátor	laboratoř A	laboratoř B	laboratoř C
polymorfizmus	STR, indel	STR	VNTR	STR
metoda	FA a qPCR	FA	standard PCR a FA	STR-PCR a FA
komerční kit	ano pro STR	ano	ne	ne
citlivost	0.035%	1%	1%	1%
interpretace %	% genotypu příjemce	% genotypu dárce	% genotypu dárce	% genotypu dárce

	laboratoř D	laboratoř E	laboratoř F	laboratoř G
polymorfizmus	STR	STR, indel	VNTR	STR
metoda	FA	FA, qPCR	PCR a gelová elektroforéza	FA
komerční kit	ano	ano pro FA, ne pro qPCR	ne	ano
citlivost	1-5%	0.04%	1%	1%
interpretace %	% genotypu dárce	% genotypu příjemce	% genotypu dárce i genotypu příjemce	% genotypu příjemce

	laboratoř H	laboratoř I	laboratoř J	laboratoř K
polymorfizmus	STR, SNP a indel	STR	VNTR, STR	STR
metoda	PCR, FA, qPCR	FA	FA	FA
komerční kit	ne	ano	NA	ano
citlivost	5% STR, 1% SNP	1%	0.5%	1% - 99%
interpretace %	% genotypu dárce	% genotypu dárce	% genotypu příjemce	% genotypu dárce i genotypu příjemce

	laboratoř L	laboratoř M
polymorfizmus	STR	STR
metoda	FA	FA
komerční kit	ano	NA
citlivost	1% - 99%	99.5% dárce, 0.5% příjemce
interpretace %	% genotypu dárce i genotypu příjemce	NA

### Vysvětlivky:

STR = short tandem repeat

indel = short insertion and deletion

VNTR = variable number of tandem repeat

FA = fragmentační analýza na genetickém analyzátoru

qPCR = kvantitativní polymerázová řetězová reakce v reálném čase

NA = není k dispozici