

Závěrečná zpráva Zkoušení způsobilosti pro oblast kvantitativního vyšetření buněčného chimerizmu pro rok 2026

Varianty:

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

Materiál:

DNA izolované z buffy coatů dle přílohy č. 01, NRL_01_SOP_14_01
příjemce – X275
dárce – X274

Řádné kolo:

- 1_2026** – X275/X274 na očekávaných 6 % genotypu příjemce
- 2_2026** – X275/X274 na očekávaných 6 % genotypu příjemce
- 3_2026** – X275/X274 na očekávaných 98 % genotypu příjemce
- 4_2026** – X275/X274 na očekávaných 100 % genotypu příjemce
- 5_2026** – X275/X274 na očekávaných 0,9 % genotypu příjemce
- 6_2026** – X275/X274 na očekávaných 50 % genotypu příjemce
- 7_2026** – X275/X274 na očekávaných 52 % genotypu příjemce
- 8_2026** – X275/X274 na očekávaných 14 % genotypu příjemce
- 9_2026** – X275/X274 na očekávaných 0 % genotypu příjemce
- 10_2026** – X275/X274 na očekávaných 9 % genotypu příjemce

Zadání EPT:

Kvantitativní vyšetření buněčného chimerizmu po transplantaci - 5 vzorků základní varianta
- 10 vzorků rozšířená varianta
(Současné s kvantifikačními vzorky byl zaslán i vzorek DNA příjemce a jeho dárce).

Zúčastněné laboratoře – řádné kolo:

Tuzemští účastníci:

Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové

Hematologicko-onkologické oddělení Fakultní nemocnice Plzeň

Laboratoř molekulární biologie, HOK, Fakultní nemocnice Olomouc

Centrum molekulární biologie a genetiky, IHOK, Fakultní nemocnice Brno

Laboratoř DNA diagnostiky, Oddělení lékařské genetiky, ÚKMPLG, Fakultní nemocnice Ostrava

Zahraniční účastníci:

Laboratory of Molecular Biology, Department of Hematooncology Diagnostics, Lower Silesian Oncology Center, Wrocław, Polsko

Laboratory of Hematology and Oncology Diagnostics, Department of Clinical Immunology, University Children's Hospital, Cracow, Polsko

Laboratory of Immunogenetics, University Center of Laboratory Medicine, University Clinical Center of the Medical University of Warsaw, Warsaw, Polsko

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

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

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

Tissue Typing Laboratory, Faculty of Medicine, Istanbul University, Turecko

HLA Laboratory, Department for Transfusion Medicine and Cellular Therapy, AKH Vienna, Rakousko

National HLA Laboratory, National Institute of Blood Transfusion "Prof. Dr. C.T. Nicolau", Bucharest, Romania

V roce 2026 se celkem zúčastnilo čtrnáct laboratoří (označených A–N): čtyři v základní variantě, deset v rozšířené variantě a organizátor. Jedna laboratoř analyzovala vzorky samostatně pomocí STR analýzy a pomocí NGS.

Výsledky:

Výsledky byly statisticky vyhodnoceny, přičemž jako správná konsenzuální hodnota byl stanoven robustní průměr. Robustní směrodatná odchylka byla určena na základě historických dat jako mediánová absolutní odchylka (MAD) v závislosti na procentuálním zastoupení genotypu příjemce v analyzovaném vzorku. Výsledky byly dále hodnoceny pomocí robustního Z-skóre (čím blíže je hodnota nule, tím je výsledek přesnější). Přehled hodnot robustního Z-skóre jednotlivých účastníků je uveden v tabulce „*Statistické vyhodnocení EPT chimerizmu 2026*“, která je součástí příloh této zprávy.

Hodnocení na kategorie:

- **výborné** ($[z] \leq 1$)
 - **dobré** ($1 < [z] \leq 2$)
 - **akceptovatelné** ($2 < [z] \leq 3$)
 - **pod detekční limit laboratoře** (Citlivost používané metody účastníka není schopna zachytit minoritní genotyp – příklad: očekávané procento minoritního genotypu je 0,2 % a účastník s citlivostí 1 % detekuje pouze majoritní genotyp – tento výsledek je považován za správně určený. Ale v případě, že účastník detekuje oba genotypy a kvantifikuje je, je výsledek hodnocen dle robustního Z-skóre.)
 - **kritické** ($[z] > 3$) - nesprávný výsledek
- } správný výsledek

Pro splnění účasti EPT byla nutná minimálně 80% úspěšnost (tzn. 8/10 vzorků v rozšířené variantě, 4/5 vzorků v základní variantě).

V roce 2026 bylo 80 % výsledků v kategorii *Výborné*, 10,7 % v kategorii *Dobré*, 4,3 % v kategorii *Akceptovatelné*, 1,4 % v kategorii *Kritické* a 3,6 % v kategorii *Pod detekční limit laboratoře*.

Všichni účastníci splnili podmínky úspěšné účasti (dosažení minimálně 80% úspěšnosti), jeden účastník dosáhl 80% úspěšnosti a ostatní účastníci dosáhli 100% úspěšnosti.

Testování reprodukovatelnosti metod:

V letošním kole byla opět možnost vyzkoušet si reprodukovatelnost svých metod. Vzorky 1_2026 a 2_2026 byly připraveny jako dva alikvoty z jednoho původního vzorku. Výsledky všech účastníků jsou shrnuty v tabulce č. 1. Testování dopadlo velmi dobře, většina laboratoří udávala rozdíl mezi

dvěma stejnými vzorky 1 % a méně. Maximální udávaný rozdíl v procentuálním zastoupení genotypu příjemce u shodného vzorku byl méně jak 2 %.

Tabulka 1: Vyhodnocení reprodukovatelnosti metod používaných účastníky EPT Chimerism 2026.

Procentuální rozdíl ve vydaném výsledku mezi vzorky 1_2026 a 2_2026	Počet laboratoří	Použité metody
0	4	in-house STR, in-house qPCR; AmpFLSTR Identifiler; in-house STR; PowerPlex 16HS;
≤ 0,2	2	KMRtrack, NGStrack
≤ 0,5	4	NGStrack; KMRtrack; Mentype DIPquant; in-house STR, in-house VNTR
≤ 1	5	in-house STR; AmpFLSTR Identifiler Plus, Mentype Chimera; AlloSeq HCT; not specified STR; Qiagen InvestigatorID Plex Plus Kit
< 2	1	AmpFLSTR Identifiler Plus

Přehled metod používaných zúčastněnými laboratořemi pro kvantitativní vyšetření buněčného chimerizmu, včetně jejich citlivosti, je uveden v tabulce *Přehled použitých metod všech účastníků – kvantitativní vyšetření buněčného chimerizmu 2026*. Seznam komerčních kitů využívaných ve zúčastněných laboratořích je uveden v tabulce *Přehledu používaných kitů 2026*. Oba přehledy jsou součástí příloh této zprávy.

Závěr:

Letošní kolo Zkoušení způsobilosti pro oblast kvantitativního vyšetření buněčného chimerizmu proběhlo úspěšně. Všichni účastníci obdrželi certifikát potvrzující jejich úspěšnou účast.


Zpracovala: Mgr. Lucie Stefflová

V Praze dne 30.6.2026

Ústav hematologie a krevní transfuze
Národní referenční laboratoř pro DNA diagnostiku
Oddělení buněčného chimerizmu
Kateřinská 521/19, 120 00 Praha 2
Tel. 221 977 308, IČO: 00023736
(211)

Statistické vyhodnocení EPT chimerizmu 2026

očekávané výsledky*	1_2026 (6%)	2_2026 (6%)	3_2026 (98%)	4_2026 (100%)	5_2026 (0,9%)	6_2026 (50%)	7_2026 (52%)	8_2026 (14%)	9_2026 (0%)	10_2026 (9%)
organizátor	6,000	6,000	98,000	100,000	0,761	48,000	50,000	12,000	0,000	8,000
laborať A	7,000	7,000	98,500	100,000	2,000					
laborať B	6,280	6,570	98,010	99,990	0,950					
laborať C	5,440	6,070	97,360	100,000	0,000	49,150	51,410	14,450	0,000	8,210
laborať D	7,000	6,000	98,000	100,000	1,000					
laborať E	5,500	5,170	100,000	100,000	0,760	50,930	62,620	14,340	0,000	7,130
laborať F	6,620	5,880	98,030	100,000	1,000	50,880	52,620	14,410	0,000	9,410
laborať G	6,000	6,000	98,000	100,000	0,880	49,000	50,000	14,000	0,000	9,000
laborať H	7,510	7,900	97,820	99,070	1,070					
laborať I	7,000	8,000	100,000	100,000	0,000	50,000	54,000	14,000	0,000	12,000
laborať J	10,000	9,000	100,000	100,000	0,000	49,000	54,000	16,000	0,000	13,000
laborať K - STR	8,000	8,000	98,000	100,000	1,000	50,000	51,000	15,000	0,000	11,000
laborať K - NGS	6,200	6,400	97,700	99,900	1,100	49,700	52,200	14,700	0,000	9,400
laborať L	6,500	6,000	98,000	100,000	1,000	51,000	53,000	16,000	0,000	10,000
laborať M	7,950	9,840	96,630	100,000	3,550	50,990	53,220	16,960	0,000	9,830
laborať N	5,080	5,260	97,630	99,050	0,520	50,280	51,300	13,320	0,000	7,080

robustní průměr	6,560	6,240	98,000	100,000	1,000	50,000	52,410	14,430	0,000	9,410
robustní SD**	1,227	1,179	0,913	0,598	0,354	4,526	4,526	2,287	0,186	1,634
výborné	5,33 - 7,79	5,06 - 7,41	97,09 - 98,91	99,40 - 100,00	0,65 - 1,35	45,47 - 54,53	47,88 - 56,94	12,14 - 16,72	0,00 - 0,19	7,77 - 11,04
dobré	4,11 - 9,01	3,88 - 8,59	96,17 - 99,83	98,80 - 100,00	0,29 - 1,71	40,95 - 59,05	43,36 - 61,46	9,86 - 19,00	0,00 - 0,37	6,14 - 12,67
akceptovatelné	2,88 - 10,24	2,70 - 9,77	95,26 - 100,00	98,21 - 100,00	0,00 - 2,06	36,42 - 63,58	38,83 - 65,99	7,57 - 21,29	0,00 - 0,56	4,50 - 14,31
nejjistota	0,383	0,368	0,305	0,187	0,123	1,633	1,633	0,825	0,067	0,590
n**	16	16	14	16	13	12	12	12	12	12

robustní Z-skóre										
	1_2026 (6%)	2_2026 (6%)	3_2026 (98%)	4_2026 (100%)	5_2026 (0,9%)	6_2026 (50%)	7_2026 (52%)	8_2026 (14%)	9_2026 (0%)	10_2026 (9%)
organizátor	-0,456	-0,199	0,000	0,000	-0,675	-0,442	-0,532	-1,062	0,000	-0,860
laborať A	0,359	0,649	0,547	0,000	2,823					
laborať B	-0,228	0,284	0,011	-0,017	-0,141					
laborať C	-0,913	-0,140	-0,701	0,000	-2,823	-0,188	-0,221	0,009	0,000	-0,731
laborať D	0,359	-0,199	0,000	0,000	0,000					
laborať E	-0,864	-0,904	2,190	0,000	-0,678	0,205	2,256	-0,039	0,000	-1,352
laborať F	0,049	-0,301	0,033	0,000	0,000	0,194	0,046	-0,009	0,000	0,003
laborať G	-0,456	-0,199	0,000	0,000	-0,339	-0,221	-0,532	-0,188	0,000	-0,248
laborať H	0,774	1,413	-0,197	-1,556	0,198					
laborať I	0,359	1,497	2,190	0,000	-2,823	0,000	0,351	-0,188	0,000	1,588
laborať J	2,804	2,346	2,190	0,000	-2,823	-0,221	0,351	0,686	0,000	2,200
laborať K - STR	1,174	1,497	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,312	0,249	0,000	0,976
laborať K - NGS	-0,293	0,140	-0,328	-0,167	0,282	-0,066	-0,046	0,118	0,000	-0,003
laborať L	-0,049	-0,199	0,000	0,000	0,221	0,130	0,686	0,000	0,000	0,354
laborať M	1,133	3,058	-1,500	0,000	7,199	0,219	0,179	1,106	0,000	0,260
laborať N	-1,206	-0,827	-0,405	-1,590	-1,355	0,062	-0,245	-0,485	0,000	-1,423

z <= 1 (výborné)
1 < z <= 2 (dobré)
2 < z <= 3 (akceptovatelné)
pod detekční limit laboratoře
z > 3 (kritické)

* Očekávané hodnoty jsou uváděné jako % genotypu příjemce.

** Robustní směrodatná odchylka byla vypočtena z historických dat jako mediánová absolutní odchylka (MAD).

*** Počet výsledků použitých pro výpočet robustního průměru.

Přehled použitých metod všech účastníků - kvantitativní vyšetření buněčného chimerizmu 2026

	organizátor	laboratoř A	laboratoř B	laboratoř C
polymorfismus	STR, indel	STR	indel	STR
metoda	FA, qPCR	FA	NGS	FA
komerční kit	genotypizace ano, kvantifikace ne (STR i indel)	ano	ano	ne
citlivost	FA 1%; qPCR 0,035%	1%	0,5%	1%

	laboratoř D	laboratoř E	laboratoř F	laboratoř G
polymorfismus	STR, indel	indel	SNP	STR, indel
metoda	FA, qPCR	qPCR	NGS	FA, ddPCR
komerční kit	STR ano, qPCR ne	ano	ano	genotypizace ano pro STR, kvantifikace ne (STR i indel)
citlivost	FA 1%; qPCR 0,1%	0,1%	0,22%	FA 1%; ddPCR 0,05%

	laboratoř H	laboratoř I	laboratoř J - STR	laboratoř K - STR
polymorfismus	STR, indel	STR	STR	STR
metoda	FA, qPCR	FA	FA	FA
komerční kit	ano	not specified	ano	ano
citlivost	FA 1%; qPCR 0,013% - 0,2% dle markeru	5%	5%	1%

	laboratoř K - NGS	laboratoř L	laboratoř M	laboratoř N
polymorfismus	indel	STR, VNTR	STR	indel
metoda	NGS	FA	FA	qPCR
komerční kit	ano	ne	ano	ano
citlivost	0,5%	0,5%	1-5%	0,066%

Vysvětlivky:

STR = short tandem repeat

NGS= next generation sequencing

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

ddPCR = droplet digitální PCR

Přehled používaných kitů 2026

in-house STR, in-house VNTR (FA)	počet účastníků
in-house	4
AmpFLSTR Identifiler (Applied Biosystems)	2
AmpFLSTR Identifiler Plus (Applied Biosystems)	1
PowerPlex 16HS (Promega)	1
Mentype Chimera CE-IVD (Biotype)	1
Mentype DIPscreen CE-IVD (Biotype)	1
Investigator ID Plex Plus Kit (Qiagen)	1
nespecifikováno účastníkem	1
indel (qPCR)	počet účastníků
KMRtrack (GenDX)	2
in-house	2
Mentype DIPquant (Biotype)	1
droplet digital PCR (ddPCR)	počet účastníků
in-house	1
NGS	počet účastníků
NGStrack (GenDx)	2
AlloSeq HCT (CareDx)	1