

Cyklus: HB/18 – Histologické barvení (studie)

Tato studie byla realizována jako „nultý“ cyklus s cílem ověřit všechny postupy (příprava vzorků, distribuce cyklu účastníkům, sběr dat a hodnocení výsledků) nutné pro případné zavedení nového programu do Plánu EHK. Kontakt na poskytovatele EHK a na koordinátora EHK naleznete na www.sekk.cz v oddíle O nás.

Vzorky

Byly použity vzorky (histologická skla se vzorky tkání), které byly připraveny na pracovišti subdodavatele. Každý účastník obdržel 2 skla (označená A a B) a pro každé sklo bylo předepsáno barvení, které má účastník provést. Účastníci neměli možnost použít žádné jiné barvení, než předepsané. Účelem testování bylo zhodnotit úroveň barvení tkáňových řezů běžným barvením hematoxylin-eozínem (HE) a dále zhodnotit barvení různých mykotických mikroorganismů metodou Periodic Acid Schiff (PAS). K testování sloužily pro obě metody tkáňové řezy získané z téhož složeného tkáňového bločku, ve kterém byla tkáň pupečnicku s mykotickou funisidou (s morfologií kandidózy), plicní tkáň s masivně pomnoženým mykotickým agens s morfologií aspergilózy a dále regresivně, až nekroticky změněná plicní tkáň (pítevní materiál) se silnými mykotickými vlákny, s morfologií mukormykózy.

Hodnocení výsledků účastníků

Úkolem pracovišť bylo:

1. Provést předepsané barvení standardním postupem, který je používán v rámci rutinního provozu laboratoře a informaci o barvení zapsat do průvodního listu.
2. Zaslát nám zpět obarvená skla (vzorky EHK) spolu s vyplněným průvodním listem.

Hodnocení práce (kvality barvení) účastníků probíhá tak, že se sejde hodnotící tým složený ze 3 expertů. Tento tým hodnotí **kvalitu barvení** testovacích preparátů ve škále 0 až 2 body pro každé jednotlivé sklo takto:

- 0 ... barvení nevyhovuje
- 1 ... barvení je ještě přijatelné
- 2 ... barvení je vyhovující

Předem byly definovány podmínky pro hodnocení, tj. za co bude snižováno bodové ohodnocení. Jednalo se zejména o následující faktory:

Akceptovatelné: Pro barvení HE slabé dobarvení jader, umožňující nicméně ještě posoudit detaily jaderné architektury. Pro metodu PAS jakákoli intenzita barvení, která ještě umožnila zachytit mykotické organismy ve tkáni při použití objektivu s menším zvětšením (4x, 10x) a zvýraznila mykotická vlákna oproti struktuře okolní tkáně.

Nevyhovující: Pro barvení HE velmi slabé barvení cytoplazmy buněk eozínem, prakticky neumožňující hodnocení tkáně, velmi slabé barvení jader buněk hematoxylinem, neumožňující již posoudit detailně architekturu jader.

Pro metodu PAS slabá intenzita barvení mykotických organismů, kdy není pozorovatelný rozdíl v barvení proti okolní tkáni.

Kvalita barvení konkrétního skla není hodnocena, pokud některý expert označí sklo jako nehodnotitelné (což v tomto cyklu nenastalo).

Experti posuzují všechny vzorky anonymně, tj. bez znalosti pracoviště, které vzorek zaslalo.

Složení týmu expertů	Doc. MUDr. Tomáš Jirásek, Ph.D. MUDr. Petra Kašparová, Ph.D. MUDr. Markéta Trnková
-----------------------------	--

Expert si na několika anonymních modelových případech společně otestovali svá měřítka pro hodnocení a prodiskutovali možné sporné body tak, aby zajistili maximální možnou shodu v interpretaci mezi jednotlivými experty. Bodová hodnocení pro jednotlivé vzorky se od jednotlivých expertů sčítala, součty tedy mohly dosáhnout 0 až 6 bodů pro každé testovací sklo (vzorek EHK). Dosažené sumy bodů byly následně hodnoceny takto:

Počet bodů	Hodnocení	Doporučení
6 nebo 5	výborný výsledek	
4 nebo 3	akceptovatelný výsledek	Je vhodné výsledky barvení zlepšit (existuje prostor pro zlepšení).
2 a méně	nevyhovující výsledek	Jde o varovný signál a impuls k okamžitému řešení

Je-li výsledek účastníka na základě bodového hodnocení označen jako „výborný výsledek“ nebo „akceptovatelný výsledek“, je takový výsledek celkově v rámci EHK hodnocen jako **úspěšný**.

Nulový počet bodů mohou dostat jen ty preparáty, u kterých se všichni hodnotící experti shodnou, že takto barvené preparáty nelze použít v rutinní diagnostické praxi.

Cyklus: HB/18 – Histologické barvení (studie)**Komentář supervizora**

Tohoto cyklu se zúčastnilo 42 pracovišť, z nich 3 ze Slovenska.

Vzorek A

HE (úspěšnost 100 %): Výsledky hovoří jasně, barvení HE je naprostý základ metodiky jakékoli histomorfologické laboratoře a testovaná pracoviště toto barvení zvládají v kvalitě dostatečné pro diagnostiku. Nižší hodnocení (akceptovatelný výsledek) bylo použito pouze zcela ojediněle v případech, kdy se ve vzorcích slabě barvila jádra. Barvení HE má mnoho variant, které jsou používány dle lokálních zvyklostí a tradic pracovišť. To, zda se subjektivně konkrétní barvení líbí či nelíbí jednotlivým hodnotitelům, bylo při hodnocení předmětem diskuze, neovlivňovalo však nijak bodové hodnocení jednotlivých preparátů; klíčovým parametrem hodnocení byla použitelnost barvení v rutinním provozu.

Vzorek B

PAS (úspěšnost 100 %): I zde platí totéž, co je výše popsáno u HE, jedná se o základní histologické barvení, které umíme, a to opět v kvalitě dostatečné pro diagnostiku. Účelem tohoto cyklu bylo otestovat, zda barvení metodou PAS na pracovištích dokáže zvýraznit přítomnost mykotických organismů ve tkáni a závěr zní, že dokáže. Ve zcela ojedinělých případech, kdy byly preparáty hodnoceny jako akceptovatelné, a to z důvodu slabé intenzity barvení mykotických organismů, doporučujeme takto hodnoceným pracovištím **zvážít**, zda intenzita barvení mykofyt je v jejich laboratořích dostatečná. Rozdíly mohou souviset s tloušťkou tkáňových řezů; barvení, které se na tenčím, v EHK použitým řezu, jeví jako slabé, může být v silnějším řezu již dobře hodnotitelné. Silná (dle některých hodnotitelů až příliš silná) intenzita barvení nebyla v tomto cyklu příčinou nižšího bodového hodnocení žádné ze zúčastněných laboratoří, barvení vždy zvýraznila vlákna hub proti okolní tkáni.

Způsob provedení barvení

Formou doplňující informace účastníci uváděli, zda barvili ručně či automatem. Zde jsou odpovědi (počty účastníků).

	<i>Neuvedeno</i>	<i>Ručně</i>	<i>Automat</i>
Vzorek A	0	15	27
Vzorek B	0	34	8

Zatím jsme nepozorovali rozdíly mezi ručním a „strojovým“ barvením ani u jedné z metod, detailnější analýza může být předmětem některého z příštích cyklů EHK.

Souhrn

Všechny zaslané preparáty se barvily a byly dle názoru expertů použitelné v rutinní praxi; tloušťka řezů je otázkou lokálního zvyku pracovišť, stejně tak intenzita barvení tkání hematoxylinem a eozínem. Vzorky, které některé laboratoře pokládají za výborné, mohou být jiným pracovištěm hodnoceny jako tlusté a nevyhovující, případně přebarvené (a naopak). Opakujeme, že měřítkem hodnocení je použitelnost v rutinní praxi, nikoli „umělecké vyznění“ vzorku před „porotou“.

Některé vzorky byly nekrotické (v souvislosti s daným mykotickým postižením), ale právě z toho důvodu byl použit složený tkáňový bloček s non-nekrotickou tkání přítomnou v jiných místech preparátu, která umožňovala zhodnotit barvení komplexně i mimo úseky regresivních změn tkáně.

Celkové výsledky této studie projednáme se Společností českých patologů, a pokud bude výsledkem tohoto jednání zařazení nového programu **Histologické barvení (HB)** do Plánu EHK 2019, budeme vás o této skutečnosti informovat e-mailem a budete mít možnost se tohoto nového programu rutinně zúčastnit již v roce 2019.

Formální nedostatky

Nezbytnou součástí studie i procvičení formální stránky reportování výsledků EHK účastníky studie. Zde jsme nebyli zcela spokojeni, protože třetina účastníků v průvodním listu neoznačila použité barvení. Samozřejmě – nebyla k dispozici žádná alternativní barvení, takže účastníci se možná domnívali, že je zbytečné označovat použité barvení, když stejně není z čeho vybírat. Ale není tomu tak a obecně platí, že neúplně vyplněný průvodní list není zpracován. **Pamatujte: Skla, pro která účastník neuvede použité barvení, nezpracováváme** (experti je nehodnotí).

V rámci studie jsme samozřejmě nebyli tak přísní jako v rutinních cyklech, a proto jsou hodnocena i skla účastníků, kteří mají v poli „použité barvení“ údaj „neuvedeno“.

Zde je praktická ukázka správného a nesprávného vyplnění průvodního listu:

Cyklus: HB/18 – Histologické barvení (studie)

Správně		Špatně (chybí označení barvení)	
Skutečně použité barvení zakroužkujte ve sloupci M		Skutečně použité barvení zakroužkujte ve sloupci M	
	Barvení - předepsané má kód M = 1		Barvení - předepsané má kód M = 1
M	a následují náhradní barvení	M	a následují náhradní barvení
0	toto sklo jsme nezpracovali	0	toto sklo jsme nezpracovali
1	HE	1	HE
	náhradní barvení není		náhradní barvení není

Prosíme, nezapomínejte použité barvení označit.

Odborná supervize: Doc. MUDr. Tomáš Jirásek, Ph.D.
Krajská nemocnice Liberec, a.s.
Oddělení patologie
Husova 357/10, 460 01 Liberec
e-mail: tomas.jirasek@nemlib.cz

Seznam všech supervizorů včetně kontaktů na ně je k dispozici na adrese www.sekk.cz v oddíle EHK.

Závěrečná zpráva s výjimkou příloh je veřejná (je zveřejněna jako součást souhrnného vyhodnocení cyklu na www.sekk.cz). Jednotlivé přílohy, označené kódem konkrétního účastníka EHK, jsou určeny pouze pro potřebu tohoto účastníka.

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 (kvalitativní výsledky)	Dostávají účastníci, kteří uvedli kvalitativní výsledky. Ve výsledkovém listu naleznete bodové hodnocení barvení, které provedl tým expertů pro jednotlivá skla (symbolika je vysvětlena v legendě). Můžete zde porovnat své výsledky s anonymizovanými výsledky (počty bodů) ostatních účastníků.
Poznámky:	
<ul style="list-style-type: none"> Vysvětlení obsahu jednotlivých zpráv naleznete na adrese www.sekk.cz v oddíle EHK pod odkazem Zprávy pro účastníky EHK. Souhrnný přehled výsledků tohoto cyklu je k dispozici na adrese www.sekk.cz. 	

Přílohy jsou identifikovány svým názvem, označením cyklu a kódem účastníka.

Zároveň účastníkům vracíme všechna skla, která nám zaslali.