Cyklus: VIB1/20 – Všeobecná imunohistochemie - barvení

Tento cyklus byl realizován v souladu s dokumentem ***Plán EHK 2020***.

Vzorky

Byly použity vzorky (histologická skla se složenými tkáňovými bloky), které byly připraveny na pracovišti subdodavatele.
Každý účastník obdržel 5 skel (označených A až E) a pro každé sklo bylo předepsáno barvení, které má účastník provést. Pro případ, že by některý účastník nemohl předepsané barvení provést, měli účastníci k dispozici ještě další markery, ze kterých mohli zvolit náhradu.
V případě, že by v průběhu barvení došlo ke znehodnocení většího počtu vzorků na skle (3 nebo více), mohli si účastníci vyžádat náhradní sklo. **Proto je nutné, aby účastníci zpracování vzorků prováděli co nejdříve po jejich doručení** (jedině tak mají šanci získat náhradní sklo před stop termínem cyklu).

Hodnocení výsledků účastníků

Úkolem pracovišť bylo:

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

Hodnocení práce (kvality barvení) účastníků provádí tým složený ze 3 expertů. Experti hodnotí **kvalitu barvení** na škále 0 až 2 body pro každé jednotlivé sklo takto:

Počet bodů	***Popis***	***Kritéria***
2	Výborné barvení	Barvení bez připomínek ze strany expertů.
1	Akceptovatelné barvení	Nízká úroveň očekávaného barvení, silné pozadí.
0	Nevyhovující barvení	Zcela negativní nebo velmi nízká úroveň barvení v očekávané lokalizaci, malý rozdíl mezi slabým signálem a vysokým přibarvením pozadí prakticky neumožňující hodnocení. Je na místě poznamenat, že nulový počet bodů dostávají jen ty preparáty, které dle názoru experta nelze použít v rutinní praxi.

Kvalita barvení konkrétního skla se nehodnotí, pokud některý expert označí sklo jako nehodnotitelné nebo pokud je účastník obarvil jiným než předepsaným nebo náhradním barvením, nebo barvení vůbec neprovedl.
Nezpracováváme skla a výsledky doručené pozdě (po schůzce expertů).
Experti posuzují všechny vzorky anonymně, tj. bez znalosti účastníka, který vzorek zaslal.

Tým expertů	MUDr. Pavel Fabian, Ph.D. MUDr. Karel Veselý, Ph.D. MUDr. Víta Žampachová

Experti si na několika anonymních modelových případech společně ověřili svá měřítka pro hodnocení a prodiskutovali možné sporné body tak, aby zajistili maximální možnou objektivitu při interpretaci mezi všemi 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:

Součet bodů	***Hodnocení***	***Doporučení***
6 nebo 5	Výborný výsledek	Bez připomínek.
4 nebo 3	Akceptovatelný výsledek	Je vhodné barvení zlepšit (barvení není optimální).
2 a méně	Nevyhovující výsledek	Jde o varovný signál a impuls k okamžitému řešení

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

Způsob uspořádání tohoto programu je inspirován systémem a webovými stránkami NORDIQC, etablovaného evropského poskytovatele EHK pro imunohistochemii. Velmi doporučujeme při výběru primárních protilátek a optimálních protokolů prostudovat tyto stránky: www.nordiqc.org

Cyklus: VIB1/20 – Všeobecná imunohistochemie - barvení

Komentář supervizora

Tohoto cyklu se zúčastnilo 73 pracovišť, z nich 10 ze Slovenska a 1 z Maďarska.

Výběr tkání pro EHK i vnitřní kontroly se řídí obecným pravidlem: správně fungující metoda dobře obarví i vzorky s nízkou úrovní exprese antigenu. Proto se do kontrol zařazují tkáně, kde je při dostatečně senzitivní metodě výsledek barvení slabý. V tomto cyklu je to např. slabá pozitivita hladkosvalového aktinu v perisinusoidálních buňkách jater, středně silná pozitivita CDX-2 v buňkách interkalárních vývodů pankreatu nebo slabá pozitivita WT-1 ve stromálních buňkách sliznice vejcovodu.

Výsledky v tomto cyklu byly výborné. Celková úspěšnost u všech antigenů přesahovala 95 %, velká část výsledků byla dokonce experty označena jako výsledky optimální. Nevyhovělo jen 6 jednotlivých barvení z celkem 327 provedených a hodnocených. Nevyhovujících i akceptovatelné výsledky jsou podmíněny slabší než očekávanou pozitivitou, falešné pozitivity jsou jen ojedinělé. Každý výsledek v kategorii „akceptovatelný“ by měl být podnětem k optimalizaci metody. Neúspěšní účastníci dostávají individuální komentář.

Prosíme, čtěte individuální komentáře, které naleznete ve svých výsledkových listech.

Dosažené úspěšnosti (podrobný přehled včetně počtů výsledků najdete ve statistice na webu)

Vzorek A

GFAP - úspěšnost 92 % - přibližně 60 % laboratoří dosáhlo slabého barvení ve všech tkáních v testovacím složeném bloku a supervizoři se shodli na názoru, že imunoreaktivita tkání byla zřejmě ovlivněna časovou prodlevou mezi přípravou vzorků a vlastním barvením. Proto jsme tyto slabé výsledky GFAP hodnotili jako akceptovatelné. Na druhou stranu třetina účastníků provedla detekci GFAP s vynikajícím výsledkem. Neuspěli jen dva účastníci, jejichž výsledky byly prakticky negativní ve všech tkáních, nesrovnatelně horší, nežli u všech ostatních.

S-100 - úspěšnost 98 % - výsledky nevyžadují komentář.

Vzorek B

Desmin - úspěšnost 98 % - výsledky nevyžadují komentář.

Hladkosvalový aktin - úspěšnost 94 % - výsledky nevyžadují komentář.

Vzorek C

CK 20 - úspěšnost 100 % - výsledky nevyžadují komentář.

CDX-2 - úspěšnost 100 % - výsledky nevyžadují komentář.

Vzorek D

PAX-8 - úspěšnost 97 % - výsledky nevyžadují komentář.

WT-1 - úspěšnost 100 % - výsledky nevyžadují komentář.

Vzorek E

IgG4 - úspěšnost 100 % - výsledky nevyžadují komentář.

CD 138 - úspěšnost 100 % - výsledky nevyžadují komentář.

CD 20- úspěšnost 100 % - výsledky nevyžadují komentář.

Poznámky účastníků

Připomínky k nižší kvalitě vzorků byly výjimečné, při přípravě došlo k vykrájení některých tkání, podle platných pravidel to neovlivňuje použitelnost vzorků pro EHK testování. Za tyto drobné nedostatky se omlouváme.

Dlouhodobá úspěšnost

V následující tabulce je uveden přehled celkové úspěšnosti účastníků tohoto cyklu za poslední 2 roky. V záhlaví sloupců jsou uvedena jednotlivá pásma úspěšnosti (0 % … nulová úspěšnost; 50 % … úspěšnost 1 až 50 %; 75 % … úspěšnost 51 až 75 % atd.). Na dalších 2 řádcích je pak absolutní a relativní počet účastníků, kteří příslušné úspěšnosti dosáhli.

	Úspěšnost	***0 %***	***50 %***	***75 %***	***80 %***	***85 %***	***90 %***	***95 %***	***99 %***	***100 %***
Počet	absolutní	0	0	3	3	3	10	25	0	29
	relativní	-	-	4,1 %	4,1 %	4,1 %	14 %	34 %	-	40 %
Poznámka: Svou vlastní celkovou úspěšnost za poslední 2 roky naleznete ve svém výsledkovém listu.										

Celková úspěšnost většiny účastníků tohoto cyklu je větší než 80 %.

Úspěšnost 80 % nebo nižší zaznamenalo 6 (tj. 8,2 %) účastníků, pro které by se mělo jednat o impuls ke zlepšení.

Cyklus: VIB1/20 – Všeobecná imunohistochemie - barvení

Odborná supervize: MUDr. Pavel Fabian, Ph.D.
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
Brno
e-mail: fabian@mou.cz

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.

Přílohy jsou identifikovány svým názvem, označením cyklu a kódem účastníka a jsou určeny pouze pro potřebu tohoto účastníka.

Zároveň účastníkům vracíme všechna skla, která nám zaslali.

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.
- Seznam všech supervizorů včetně kontaktů.
- 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.