

VIB2/23: Všeobecná imunohistochemie - barvení

Tento cyklus byl realizován v souladu s dokumentem *Plán EHK 2023*.

Vzorky

Byly použity vzorky (histologická skla se složenými tkáňovými bloky), které byly připraveny subdodavatelem. 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 mohou 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. Zaslát 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.

Experti posuzují všechny vzorky anonymně, tj. bez znalosti účastníka, který vzorek zaslal.

Tým expertů	MUDr. Pavel Fabian, Ph.D. MUDr. Petra Kašparová, Ph.D. MUDr. Daniela Skanderová
--------------------	---

Experti si na několika anonymních modelových případech otestovali 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 „výborný výsledek“ nebo „akceptovatelný výsledek“, je takový výsledek celkově v rámci EHK hodnocen jako **úspěšný**.

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

VIB2/23: Všeobecná imunohistochemie - barvení

Komentář supervizora

Tohoto cyklu se zúčastnilo 80 pracovišť, z nich 13 ze Slovenska, 1 z Maďarska a 1 z Polska.

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 až středně silná pozitivita DOG-1 a c-kit v Cajalových buňkách myenterického plexu, nebo slabá až střední pozitivita NKX3.1 ve spermatogoniích ve varleti.

Výsledky v tomto cyklu byly velmi dobré. Nevyhovující (případně akceptovatelné) výsledky byly většinou podmíněny slabší než očekávanou pozitivitou, falešné positivity byly jen ojedinělé, ale pokud se vyskytly, byly velmi významné, jako například c-kit silně přibarvující hladkou svalovinu a epitely. Každý výsledek v kategorii „akceptovatelný“ by měl být podnětem k optimalizaci metody.

**Některým účastníkům zasíláme individuální komentáře, které naleznou ve svých
výsledkových listech.
Prosím, věnujte jim pozornost.**

Výsledky účastníků (podrobný přehled včetně počtů výsledků najdete ve statistice na webu):

Vzorek A

CK 5 (úspěšnost 100 %): Výsledky nevyžadují komentář.

CK 5/6 (úspěšnost 100 %): Výsledky nevyžadují komentář.

CK HMW (úspěšnost 92 %): Všechny nevyhovující výsledky jsou podmíněny velmi slabou pozitivitou. U některých z těchto účastníků je přítomna akceptovatelná slabší pozitivita ve skvamózním karcinomu a v jícnovém epitelu, ale prakticky negativní barvení v basálních buňkách prostaty. Hodnoceno též ve srovnání s ostatními účastníky, kde jsou výsledky ve všech tkáních homogenně velmi silné (tj. nejde o špatně zvolenou tkáň).

Vzorek B

DOG-1 (úspěšnost 93 %): Je nutno dosáhnout přesvědčivé positivity v GISTech a v Cajalových buňkách myenterického plexu.

c-kit (úspěšnost 88 %): Silná pozitivita v mastocytech není známkou fungujícího barvení – je nutno dosáhnout přesvědčivé positivity v GISTech a v Cajalových buňkách myenterického plexu.

CK AE1/AE3 (úspěšnost 89 %): Většina nevyhovujících výsledků je podmíněna velmi slabým až negativním barvením hepatocytů, případně v kombinaci se slabou či nehomogenní pozitivitou v dalších epitelech. Ojediněle se vyskytlo falešné barvení.

Vzorek C

Ep-CAM (úspěšnost 100 %): Výsledky nevyžadují komentář.

CD 10 (úspěšnost 93 %): Všichni účastníci předložili velmi silné barvení ve tkáni ledviny. Zásadním bylo hodnocení germinálních center v tonzile – většina účastníků zde měla středně silou, výjimečně i silnou pozitivitu, jako nevyhovující byly hodnoceny ty vzorky, kde byla pozitivita germinálních center velmi slabá.

Vzorek D

NKX3.1 (úspěšnost 100 %): Výsledky nevyžadují komentář.

PSA (úspěšnost 100 %): Výsledky nevyžadují komentář.

PSAP (úspěšnost 100 %): Výsledky nevyžadují komentář.

Vzorek E

CD 138 (úspěšnost 93 %): Většina nevyhovujících výsledků je podmíněna velmi slabým až negativním barvením v epitelu tonzily a/nebo appendixu. Samotná silná pozitivita v plazmatických buňkách není známkou fungujícího barvení.

CD 79a (úspěšnost 100 %): Výsledky nevyžadují komentář.

CD 20 (úspěšnost 96 %): Výsledky nevyžadují komentář.

VIB2/23: Všeobecná imunohistochemie - barvení**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 (procento zkoušek, u kterých účastník uvedl správný výsledek). Na dalších 2 řádcích je pak absolutní a relativní počet účastníků, kteří příslušné úspěšnosti dosáhli.

Úspěšnost		0 %	1 - 74 %	75 - 79 %	80 - 89 %	90 - 94 %	95 - 99 %	100 %
Úspěšnost slovy		nevyhovující		přijatelná	dobrá	velmi dobrá	výborná	
Počet	absolutní	0	3	0	9	14	14	40
	relativní	-	3,8 %	-	11 %	18 %	18 %	50 %

Poznámka: Svou vlastní celkovou úspěšnost za poslední 2 roky naleznete ve svém výsledkovém listu.

Celková úspěšnost většiny účastníků tohoto cyklu za poslední 2 roky je 80 % nebo vyšší.

Úspěšnost nižší než 80 % je třeba považovat za impuls ke zlepšení.

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.
- 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.