

**Cyklus: HCB2/20 – Histologické a cytologické barvení**

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

**Vzorky**

Každý účastník obdržel:

- 2 histologická skla (označená A a B) a pro každé sklo bylo předepsáno barvení. Účelem testování bylo zhodnotit úroveň barvení tkáňových řezů běžným barvením hematoxylin-eozinem (HE) a dále zhodnocení barvení vaziva a hladké svaloviny ve tkáni metodou dle van Giesona. K testování sloužily pro obě metody tkáňové řezy získané z téhož tkáňového bločku, ve kterém byla biotická tkáň resekatu močového měchýře od pacienta s karcinomem močového měchýře.
- 1 cytologické sklo (označené C) - bylo testováno barvení cytologického vzorku hrudního punktátu metodou MGG, jednalo se o nefixované preparáty natřené na podložní sklíčko.

Vzorky byly připraveny na pracovišti subdodavatele.

**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 provádí 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

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

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

**Akceptovatelné:** pro barvení HE a MGG slabé dobarvení jader, umožňující nicméně ještě posoudit detaily jaderné architektiky. Pro metodu dle van Giesona jakákoli intenzita barvení, která ještě umožnila odlišit vazivo a hladkou svalovinu ve tkáni.

**Nevyhovující:** pro barvení HE velmi slabé barvení cytoplazmy buněk hematoxylinem, prakticky neumožňující hodnocení tkáně, velmi slabé barvení jader buněk eozinem, neumožňující již posoudit detailně architektiku jader.

Pro barvení MGG velmi slabé barvení cytoplazmy buněk, prakticky neumožňující hodnocení tkáně a velmi slabé barvení jader buněk, neumožňující již posoudit detailně architektiku jader.

Pro metodu dle van Giesona slabá intenzita barvení, kdy není pozorovatelný rozdíl v barvení vaziva a hladké svaloviny. Kvalita barvení konkrétního skla není hodnocena, pokud některý expert označí sklo jako nehodnotitelné.

<b>Složení týmu expertů</b>	doc. MUDr. Tomáš Jirásek, Ph.D. MUDr. Inna Tučková MUDr. Bohuslava Vaňková
-----------------------------	--

Experté si na několika anonymních modelových případech otestovali svá měřítka pro hodnocení a prodiskutovali možné sporné body tak, aby zajistili maximální možnou harmonizaci 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 sklo. Dosažené součty bodů byly následně hodnoceny takto:

<b>Počet bodů</b>	<b>Hodnocení</b>	<b>Doporučení</b>
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 experté shodnou, že takto barvené preparáty nelze použít v rutinní diagnostické praxi.

**Cyklus: HCB2/20 – Histologické a cytologické barvení****Komentář supervizora**

Tohoto cyklu se zúčastnilo 72 pracovišť, z nich 5 ze Slovenska.

**Vzorek A (histologie)**

**HE** (úspěšnost 100 %): Výsledky hovoří jasně, barvení HE je naprostý základ metodiky jakékoli histomorfologické laboratoře a testovaná pracoviště toto barvení zvládají v kvalitě vyhovující pro diagnostiku. Barvení HE má mnoho variant, které jsou používány dle lokálních zvyklostí a tradic pracovišť. To, zda se subjektivně konkrétní barvení líbí či nelíbí jednotlivým expertům, bylo při hodnocení předmětem diskuze, neovlivňovalo však nijak bodové hodnocení jednotlivých preparátů; klíčovým parametrem hodnocení byla použitelnost barvení v rutinním provozu.

**Vzorek B (histologie)**

**Barvení dle van Giesona** (úspěšnost 99 %): Zde platí totéž, co je výše popsáno u HE, jedná se o základní histologické barvení, které umíme, byť ne každá laboratoř jej má zavedené. Účelem tohoto cyklu EHK bylo otestovat, zda barvení metodou dle van Giesona na pracovištích dokáže odlišit vazivo od hladké svaloviny ve tkáni a závěr zní, že dokáže. Ve zcela ojedinělých případech, kdy byly preparáty hodnoceny jako akceptovatelné, a to z důvodu malého rozdílu mezi barvením vaziva a hladké svaloviny (bylo obtížné odlišit svalovinu od vaziva), doporučujeme takto hodnoceným pracovištím zvážit, zda metodika barvení je v jejich laboratořích optimální. Rozdíly mohou souviset s tloušťkou tkáňových řezů; barvení, které se na tenčím, v EHK použitém řezu, jeví jako slabé, může být v silnějším řezu již dobře hodnotitelné.

**Vzorek C (cytologie)**

**MGG** (nehodnoceno): Hodnotili jsme kvalitu barvení jader a cytoplazmy buněk, kdy důraz byl kladen na hodnotitelnost detailů architektiky jader buněk; bohužel u významného procenta barvených preparátů z různých pracovišť (celkem 17) jsme zaznamenali barvení hraničně akceptovatelné nebo dokonce neakceptovatelné (jádra se nebarvila). Barvitelnost původní diagnostické cytologie na pracovišti, které připravovalo vzorky, byla výborná; vzhledem k tomu, že neumíme vyloučit technický problém při zpracování vzorků, byť zatím nevíme, kde by přesně vznikl, rozhodli jsme se toto **barvení v tomto cyklu nehodnotit**. Obtíže s technickou kvalitou preparátů vnímali i jednotliví účastníci, kdy jeden z nich nám dokonce zaslal jiný, dobře obarvený vlastní cytologický vzorek.

Na základě této zkušenosti budeme od roku 2021 účastníkům zasílat 2 různá cytologická skla (ze dvou různých cytologických materiálů), přičemž standardně budou hodnocena obě skla tak, jako jsou nyní hodnocena histologická skla. Díky tomu klesne na minimum pravděpodobnost toho, že v konkrétním cyklu nebude možné vůbec hodnotit cytologii.

**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	-	16	56
Vzorek B	-	60	7
Vzorek C	-	59	5

Vzhledem k vysoké úspěšnosti účastníků není možné sledovat rozdíly mezi ručním a strojovým barvením ani u jedné z metod, detailnější analýza může být předmětem některého z příštích cyklů EHK, ve kterém by významněji narostl počet neúspěšných účastníků.

**Formální nedostatky**

Několik účastníků zapomnělo v průvodním listu vyznačit použité barvení. Jedná se přitom o zásadní údaj zejména v případech, kdy účastníci mohou vybírat z několika alternativních barvení – to sice nebyl případ tohoto cyklu, avšak je žádoucí, aby účastníci průvodní list vyplňovali vždy správně a úplně.

Účastníkům, kteří takto chybovali, zasíláme individuální komentáře, které najdou ve svých výsledkových listech.

**Souhrn**

Většina zasláných preparátů vykazovala kvalitní barvení a byly dle názoru expertů použitelné v rutinní praxi; tloušťka řezů je otázkou lokálního zvyku pracovišť, stejně tak intenzita barvení tkání hematoxylinem a eozinem. 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“.

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](mailto:tomas.jirasek@nemlib.cz)

## Cyklus: HCB2/20 – Histologické a cytologické barvení

### Přílohy

Jako přílohu této zprávy jednotliví účastníci cyklu dále dostávají:

<i>Název přílohy</i>	<i>Poznámka</i>
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.

Přílohy jsou identifikovány svým názvem, označením cyklu a kódem účastníka a jsou určeny pouze pro potřebu 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](http://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.