



Standardizace imunohistologického stanovení steroidních receptorů mezi pracovišti - studie proveditelnosti.

*Fabian P., Nenutil R., Benčík V., Bobot L.,
Jandáková E., Kolář Z., Pavlovský Z., Ryška A.,
Veselý K.*





Imunohistochemie

- Dobrý sluha, ale zlý pán.
- Vnitřní kontrola kvality:
 - pozitivní
 - negativní
- Externí kontrolu kvality (EKK) zajišťuje nezávislá instituce
 - a případně vydává osvědčení, prokazující schopnost laboratoře provádět dané vyšetření,
 - nebo naopak donáší na ty, kdo opakovaně v testech nevyhoví.





Externí Kontrola Kvality

- Externí kontrola kvality je běžná a nezbytná pro fungování např. biochemických laboratoří (v ČR cca 300 subjektů), zajišťuje SEEK s.r.o. nebo CAP. Za všechno se platí.
- Bude nepochybně vyžadována i u imunohistochemie (patologie obecně, FISHí...), zejména u prediktivních faktorů s navazující závažnou / drahou léčbou (c-kit, CD 20, EGFR, HER-2, VEGF, karcinoid /octreotid/ atd.).
- Zatím nahrazena systémem tzv. referenčních laboratoří





Cíl práce:

- Otestovat v podmínkách naší vlasti systém pro *EKK* imunohistochemického stanovení steoidních receptorů.
- Systém založen na STB (složených tkáňových blocích) .





Metodika

- 15 různých tkání pseudonáhodně mapováno do STB.
- Do „tissue array“ vloženy tkáně: játra (muž), fertilní mléčná žláza, mammární hamartom, serózní tumor ovária, endometrium a myometrium, 8x karcinom prsu s různě vysokou již známou expresí SR.





Metodika

- Nebarvené paraf. řezy rozeslány na 8 pracovišť, která rutinně stanovují SR v mammárních biopsiích.
- IHC laboratoře provedly reakci stejně jako v běžném provozu.
- Řezy vyhodnotil lékař a stanovil „%“ pozitivních buněk, zaznamenal do tabulky a tu spolu se skly a s „barvicím“ protokolem vrátil.
- Sumarizace v tabulce, fotodokumentace.





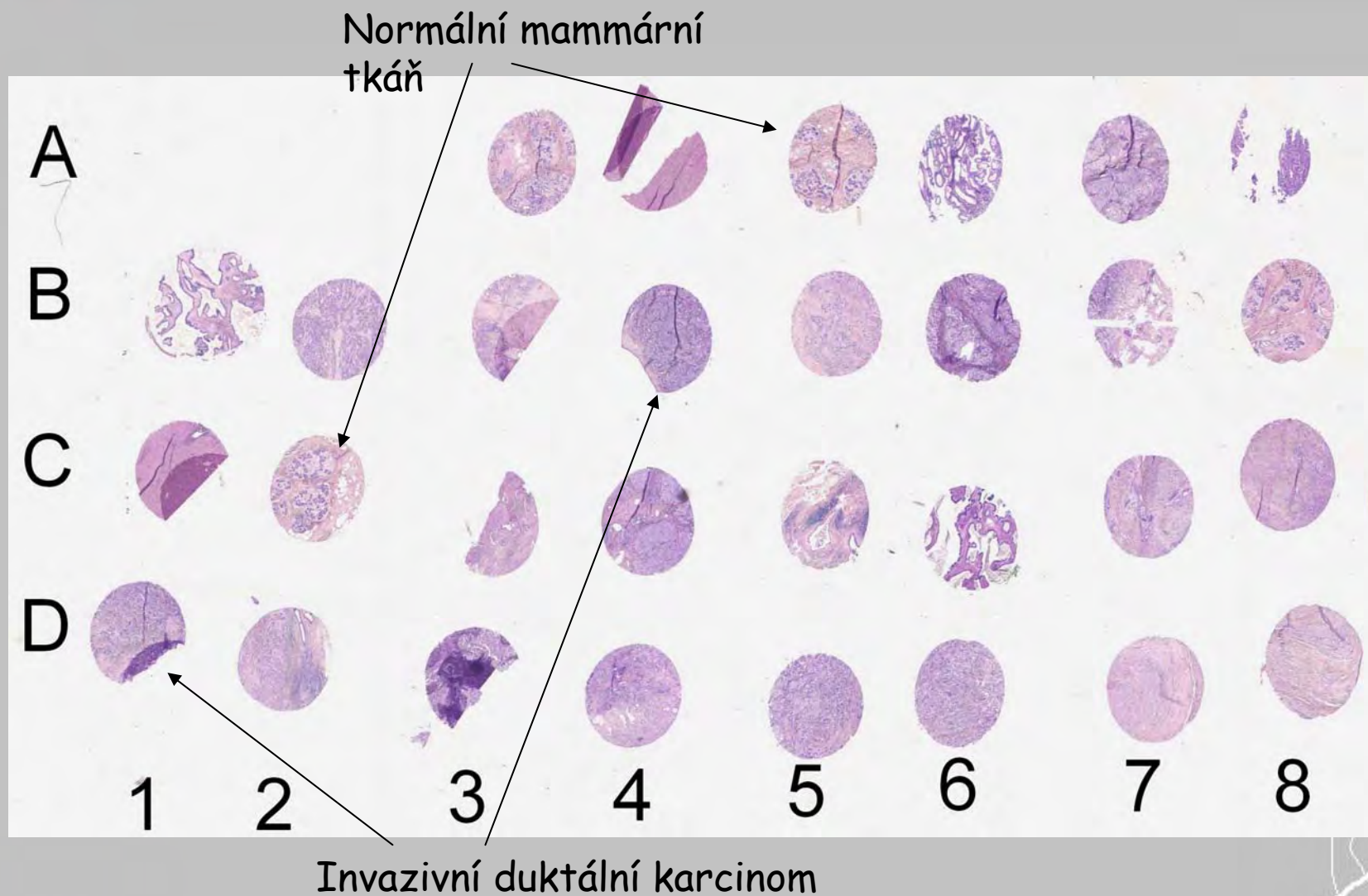
Metodika

- Všechny obrázky pořízeny stejným systémem, s aretovaným nastavením kamery i osvětlením LED diodami.
- Objektiv Plan Apo 60x s korekcí na krycí sklo.
- Všechny údaje jsou anonymní, pod číselným kódem.





HE - přehled arraye





Výsledky

Pracoviště		2208		8906		6688		2191		1042		2107		9235		1234	
		ER	PgR	ER	PgR	ER	PgR	ER	PgR	ER	PgR	ER	PgR	ER	PgR	ER	PgR
A3, B8 mammární hamartom	A3	20	10	5	5	0	20	5	15	5	5	15	15	10	5	0	0
A4, C1 jaterní tkáň	A4	0	0	0	0	0	0	0	0	10	5	5	0	0	0	0	0
A5, C2 mammární tkáň	A5	15	10	0	5	5	20	5	10	2		30	10	30	15	0	0
A6, C3 corpus uteri	A6			0	5		10	10						0	10		0
A7, C4 C50	A7	100	0	100	0	95	0	80	5	99	0	100	0	100	0	0	0
A8, C5 C50	A8			90	80			90						95	5		0
B1, C6 C56	B1	100	100	80	80	40	99	25	50	80	95	100	100	70	95	0	1
B2, C7 C50	B2	90	95	30	80	30	90	50	75	60	70	95	90	75	95	5	20
B3, C8 C50	B3	85	30	100	50	70	60	90	75	95		90	75	90	25	0	0
B4, D1 C50	B4	35	1	0	0	3	0	5	0	0	0	40	0	5	0	0	0
B5, D2 C50	B5	0	5	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0
B6, D3 C 50	B6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B7, D4 C50	B7	0	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A3, B8 mammární hamartom	B8	15	15	0	10	1	5	5	15	0	10	20	10	10	25	0	0
A4, C1 jaterní tkáň	C1	5	0	0	0	0	0	0	0	10	15	5	0	0	0	0	0
A5, C2 mammární tkáň	C2	20	25	10	20	3	20	5	5			70	10	15	15	0	10
A6, C3 corpus uteri	C3			0	60		50	0						5	40		
A7, C4 C50	C4	100	0	100	0	99	0	100	0	99	0	100	0	100	0	95	0
A8, C5 C50	C5			0	0		0	0	5								
B1, C6 C56	C6	95	95	80	90	40	90	10	25	60	90	100	100	90	95	30	20
B2, C7 C50	C7	40	30	0	30	10	70	25	25	10	50	80	80	30	65	50	5
B3, C8 C50	C8	80	10	50	20	30	30	100	75	80		100	70	85	20	0	0
B4, D1 C50	D1	20		0	0		0	10	5	0		25	0	0	0	0	1
B5, D2 C50	D2	0	10	0	0	20	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B6, D3 C 50	D3		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B7, D4 C50	D4	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D5, D6 C 50	D5	100	90	90	70	80	80	80	50	70	40	95	70	95	60	95	30
D5, D6 C 50	D6	95	60	90	70	70	70	100	25	70	20	90	65	95	80	95	5
D7, D8 C50	D7	80	70	30	30	50	50	50	25	65	10	90	75	80	45	95	0
D7, D8 C50	D8	80	5	0	0	5	0	25	5	0		80	30	70	0	95	0





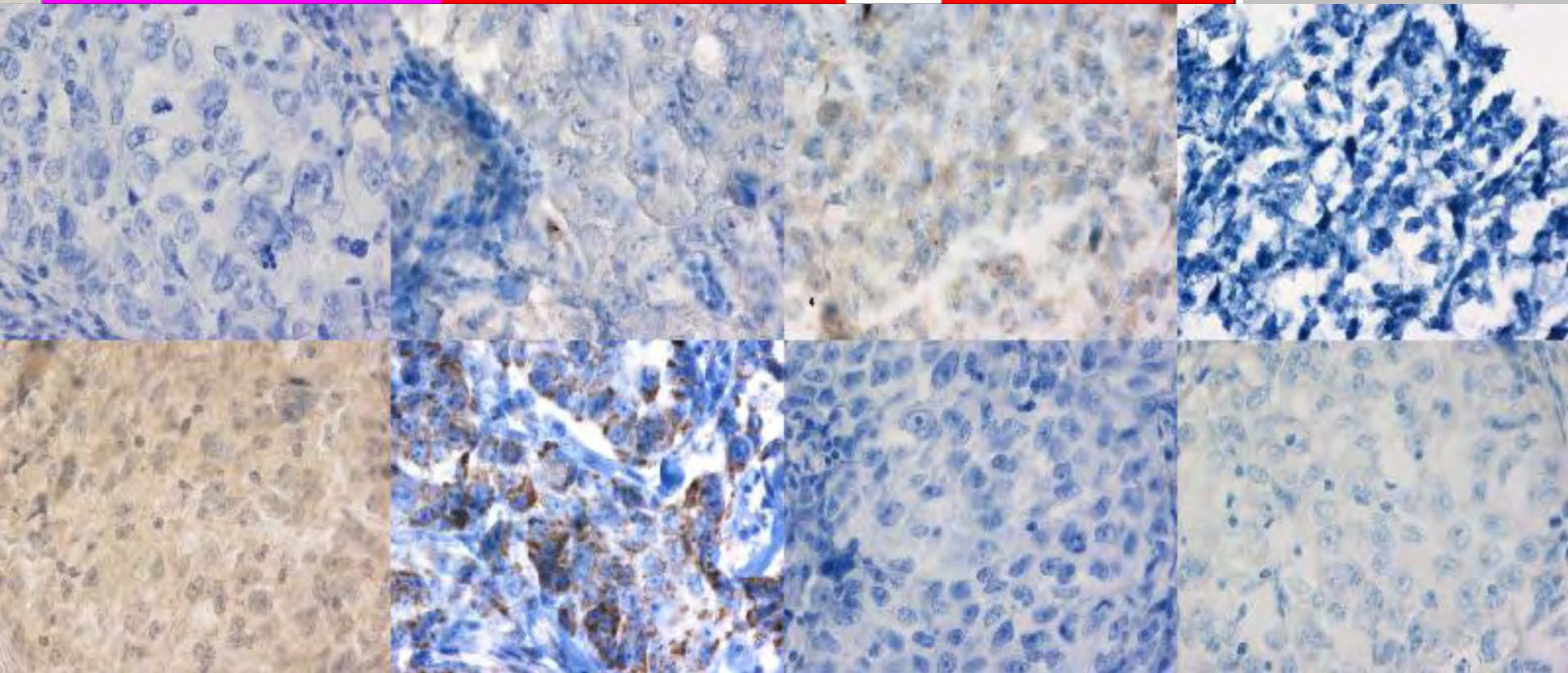
Výsledky - PgR

33	Pracoviště		2107	2208	8906	6688	2191	9235	1042	1234	
34	Materiál		PgR	PgR	PgR	PgR	PgR	PgR	PgR	PgR	
35	B1, C6 C56	B1	100	100	80	99	50	95	95	1	
36	B1, C6 C56	C6	100	95	90	90	25	95	90	20	
37	B2, C7 C50	B2	90	95	80	90	75	95	70	20	
38	B2, C7 C50	C7	80	30	30	70	25	65	50	5	
39	D5, D6 C 50	D5	70	90	80	70	50	40	60	30	vysoká shoda
40	D5, D6 C 50	D6	65	60	70	70	25	80	20	5	střední shoda
41	B3, C8 C50	B3	75	30	50	60	75	25		0	neshoda
42	B3, C8 C50	C8	70	10	20	30	75	20		0	
43	D7, D8 C50	D7	75	70	30	50	25	45	10	0	
44	A3, B8 mammární hamartom	B8	10	15	+	5	15	25	10	0	
45	A3, B8 mammární hamartom	A3	15	10	5	20	15	5	5	0	
46	A5, C2 mammární tkáň	C2	10	25	20	20	5	15		10	
47	A5, C2 mammární tkáň	A5	10	10	5	20	10	15		0	
48	D7, D8 C50	D8	30	5	0	0	5	0		0	
49	A7, C4 C50	A7	0	0	0	0	5	0	0	0	
50	A7, C4 C50	C4	0	0	0	0	0	0	0	0	
51	B4, D1 C50	B4	0	1	0	0	0	0	0	0	
52	B4, D1 C50	D1	0		0	0	5	0		1	
53	B5, D2 C50	D2	0	10	0	0	0	0	0	0	
54	B5, D2 C50	B5	0	5	0	0	0	0	0	0	
55	B6, D3 C 50	D3	0	0	0	0	0	0	0	0	
56	B6, D3 C 50	B6	0	0	0	0	0	0	0	0	
57	B7, D4 C50	D4	0	2	0	0	0	0	0	0	
58	B7, D4 C50	B7	0	15	0	0	0	0	0	0	
59	A4, C1 jaterní tkáň	A4	0	0	0	0	0	0	5	0	
60	A4, C1 jaterní tkáň	C1	0	0	0	0	0	0	15	0	
61	Protilátka		Labvisor	1A6	636	SAN27	636	636	636	polykl.	
62			x	ENV	LSAB2	ENV	x	ENV+	x		



[illegible]

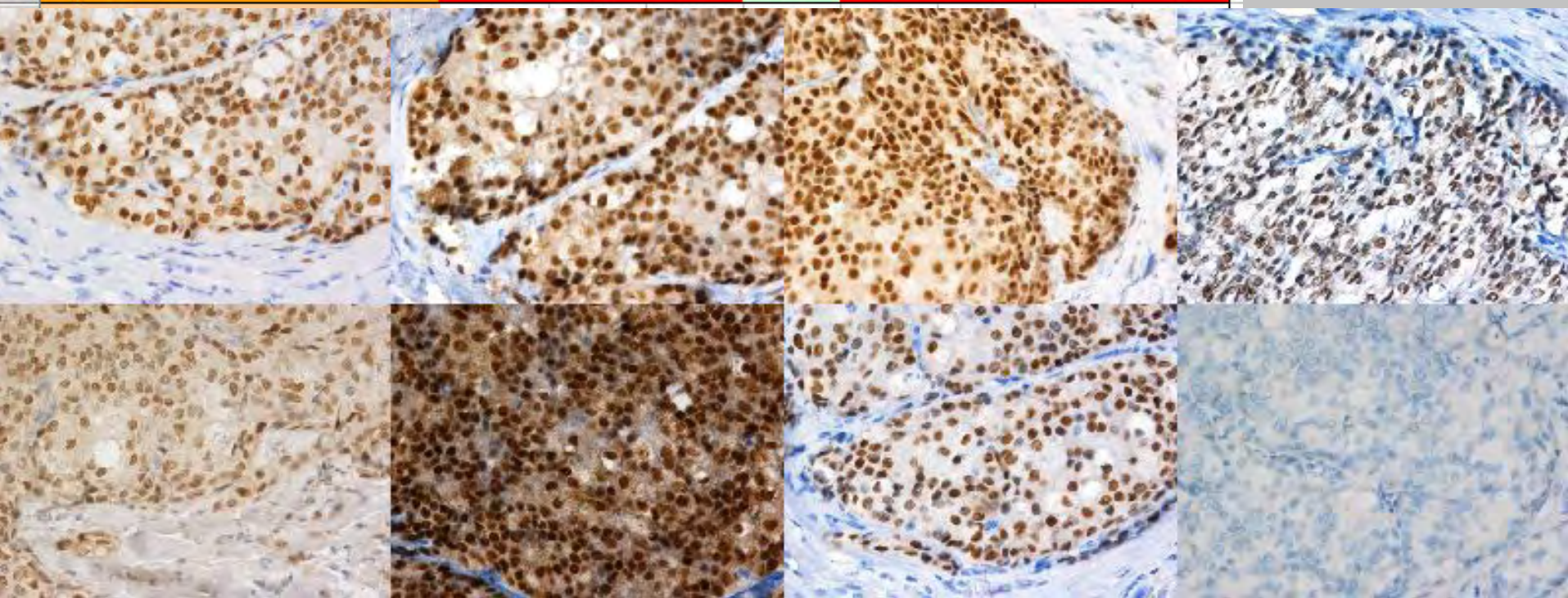
66	Pracoviště		2107	2208	9235	8906	1042	2191	6688	1234
67	Materiál		ER	ER	ER	ER	ER	ER	ER	ER
68	B6, D3 C 50	D3	0	0	0	0	0	0	0	0
69	B6, D3 C 50	B6	0	0	0	0	0	0	0	0
70	B7, D4 C50	D4	0	0	0	0	0	0	0	0
71	B7, D4 C50	B7	0	0	0	0	0	0	0	0
72	B5, D2 C50	D2	0	0	0	0	0	0	0	0
73	B5, D2 C50	B5	0	0	0	0		0	0	0

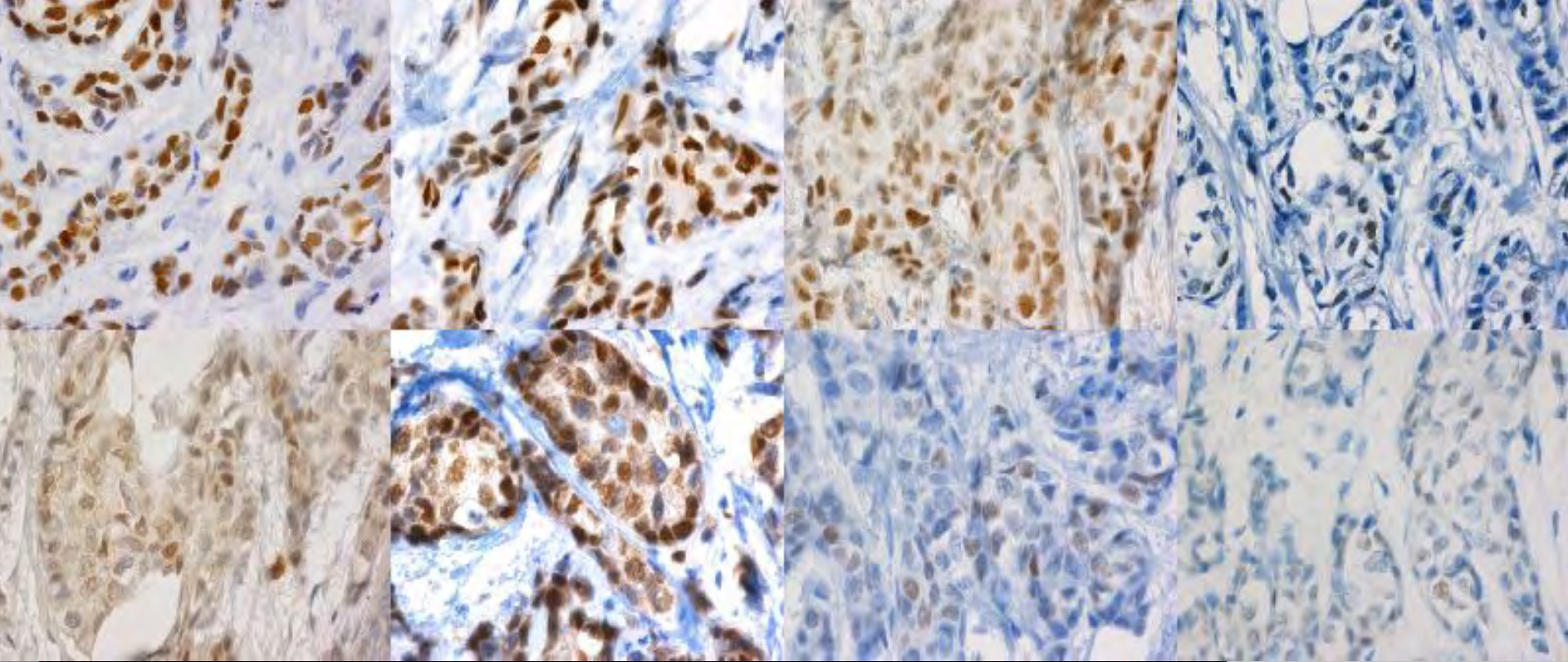


92	A4, C1 jaterní tkáň	A4	5	0	0	0	10	0	0	0
93	A4, C1 jaterní tkáň	C1	5	5	0	0	10	0	0	0
94	Protilátka		SP1	6F11	1D5	1D5	1D5	1D5	6F11	1D5
95			SP1	ENV	ENV+	LSAB2	x	x	ENV	x
96			DAB+	DAB	DAB+				DAB	
97										



101	Pracoviště		2107	2208	9235	8906	1042	2191	6688	1234
102	Materiál		ER	ER	ER	ER	ER	ER	ER	ER
103	B6, D3 C 50	D3	0	0	0	0	0	0	0	0
104	B6, D3 C 50	B6	0	0	0	0	0	0	0	0
105	B7, D4 C50	D4	0	0	0	0	0	0	0	0
106	B7, D4 C50	B7	0	0	0	0	0	0	0	0
107	B5, D2 C50	D2	0	0	0	0	0	0	0	0
108	B5, D2 C50	B5	0	0	0	0	0	0	0	0
109	A7, C4 C50	A7	100	100	100	100	99	80	95	0
110	A7, C4 C50	C4	100	100	100	100	99	100	99	95
111	B3, C8 C50	B3	90	85	90	100	95	90	70	0
112	B3, C8 C50	C8	100	80	85	50	80	100	30	0
113	D5, D6 C 50	D5	95	100	95	80	90	80	70	95
114	D5, D6 C 50	D6	90	95	95	90	70	100	70	95
115	D7, D8 C50	D7	90	80	80	30	65	50	50	95

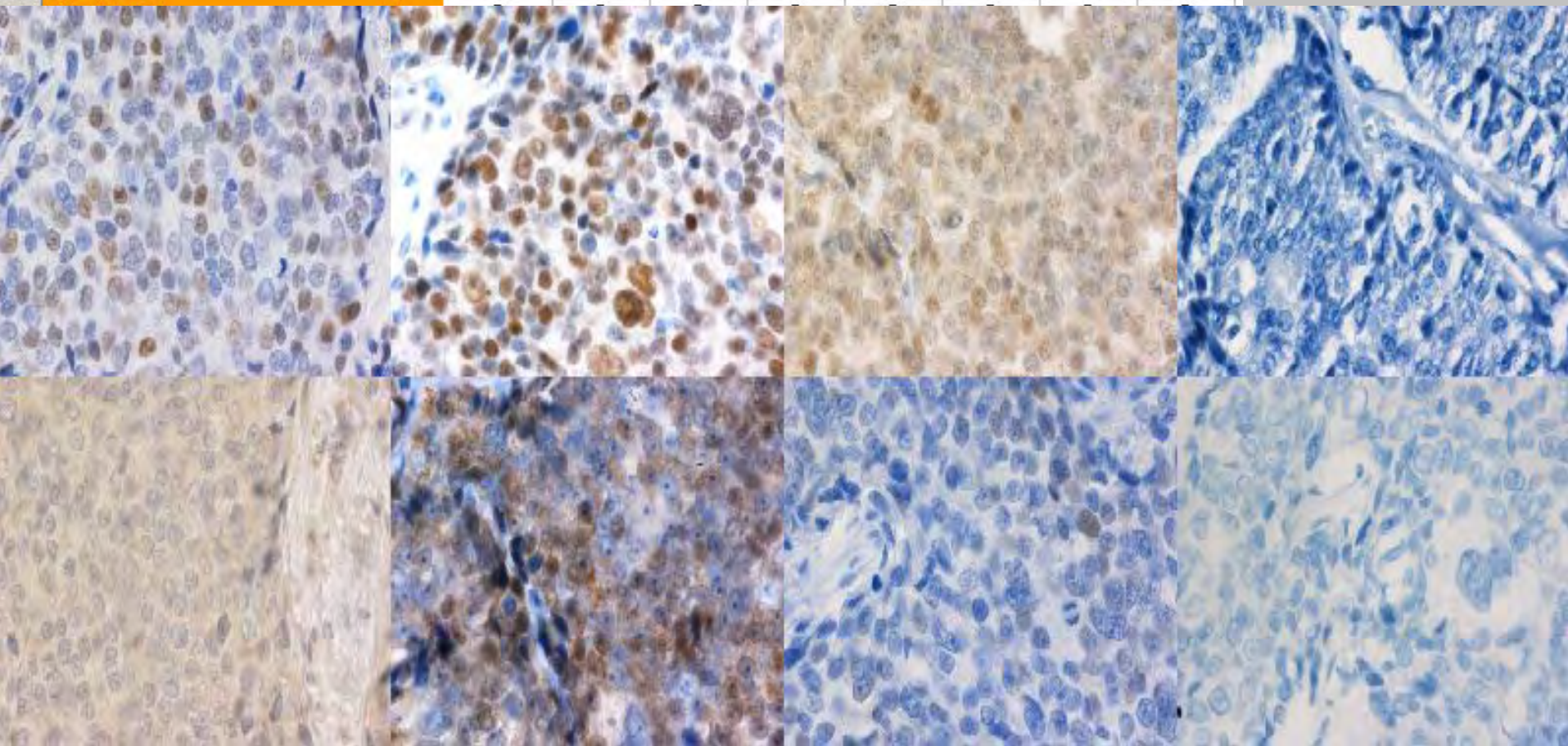




153	B2, C7 C50	B2	95	90	75	30	60	50	30	5
154	B2, C7 C50	C7	80	40	30	0	10	25	10	50
155	D7, D8 C50	D8	80	80	70	0	0	25	5	95
156	A3, B8 mammární hamartom	B8	20	15	10	0	0	5	1	0
157	A3, B8 mammární hamartom	A3	15	20	10	5	5	5	0	0
158	A5, C2 mammární tkáň	C2	70	20	15	10		5	3	0
159	A5, C2 mammární tkáň	A5	30	15	30	0	2	5	5	0
160	B4, D1 C50	B4	40	35	5	0	0	5	3	0
161	B4, D1 C50	D1	25	20	0	0	0	10		0
162	A4, C1 jaterní tkáň	A4	5	0	0	0	10	0	0	0
163	A4, C1 jaterní tkáň	C1	5	5	0	0	10	0	0	0
164	Protilátka		SP1	6F11	1D5	1D5	1D5	1D5	6F11	1D5
165			SP1	ENV	ENV+	LSAB2	x	x	ENV	x
166			DAB+	DAB	DAB+				DAB	



172	Pracoviště		2107	2208	9235	8906	1042	2191	6688	1234
173	Materiál		ER	ER	ER	ER	ER	ER	ER	ER
174	B6, D3 C 50	D3	0	0	0	0	0	0	0	0
175	B6, D3 C 50	B6	0	0	0	0	0	0	0	0



196	B4, D1 C50	B4	40	35	5	0	0	5	3	0
197	B4, D1 C50	D1	25	20	0	0	0	10		0
198	A4, C1 jaterní tkáň	A4	5	0	0	0	10	0	0	0
199	A4, C1 jaterní tkáň	C1	5	5	0	0	10	0	0	0
200	Protilátka		SP1	6F11	1D5	1D5	1D5	1D5	6F11	1D5
201			SP1	ENV	ENV+	LSAB2	x	x	ENV	x
202			DAB+	DAB	DAB+				DAB	





NordiQC



- Nekomerční, placený a sponzorovaný systém skandinávských zemí, od r. 2003.
- General module (800 euro)
 - 4x ročně cca 6 antigenů v jednom kole
- Breast module (250 euro)
 - 2x ročně Her-2, ER, PgR





NordiQC

- Rozeslání nebarvených skel ze složeného tkáňového bloku.
- Nabarvit a vrátit zpět se svou kontrolou a s protokolem.
- Vybrané tkáně (pufr. 10% formalin) jsou předem otestovány čtyřmi referenčními laboratořemi.
- Hodnotí 4 stálí členové, kriteria hodnocení a anonymní výsledky jsou „na webu“ i s ilustračními fotografiemi. Každý obdrží e-mailem své výsledky i s příp. doporučením na změnu protokolu.





UK NEQAS

- Nekomerční, placený a sponzorovaný systém UK, od r. 1988.
- 4x ročně 3-14 skel
- 1. General Pathology Immunocytochemistry
 2. Breast Pathology Immunocytochemistry
 3. Neuropathology Immunocytochemistry
 4. Lymphoma Pathology Immunocytochemistry
 5. Non gynae cytology

<http://www.ukneqas.org.uk/>





UK NEQAS

- Rozeslání nebarvených skel z „centrálního“ (složeného) tkáňového bloku.
- Nabarvit zaslaná skla a vrátit zpět se svou kontrolou a s protokolem.
- Hodnotí 4 zkušené osoby, skórování 1-5.
 - 13-20 optimální
 - 10-12 borderline
 - pod 12 - nevyhovující





College of American Pathologists

- Prediktivní IHC:
- CD117, ER, CD-20, HER-2, EGFR
- Tissue microarrays (10 cores)
- Vyhodnotit a odeslat svůj náález
 - (např. HER-2 pozitivní: 2+)

<http://www.cap.org/apps/cap.portal>





Shrnutí

- Navrhovaný systém je vhodný pro kontrolu kvality IHC stanovení steroidních receptorů.
- Identifikovány a řešeny případné nedostatky testovacího systému.
- Zjištěna velmi dobrá shoda pro SR negativní a SR vysoce pozitivní případy.
- Zjištěna neshoda pro slabě pozitivní případy.





Doporučení

- Výsledky a obrázky tohoto předkola budou na adrese
 - *www.Patologie.info*
- Nabízíme identická skla k otestování
 - Možno anonymně zaslat na patol. MOÚ Brno - souhrnná informace bude poskytnuta výboru společnosti.
- Doporučujeme
 - při ordinaci IHC průkazu steroidních receptorů vybírat blok obsahující normální mammární tkáň.
 - optimalizovat revitalizaci antigenu a používat detekční systémy s vysokou senzitivitou.





Shrnutí

- Kontrola kvality je - zdá se - nezbytná.
- Tak či tak se jí zřejmě nevyhneme.
- Podobně nutno testovat další IHC reakce s prediktivní a diagnostickou váhou (EGFR1,2, c-kit, melanomové a lymfomové markery, cytokeratiny, tumor-specifické antigeny), stejně jako *in-situ* hybridizace.
- Je na čase zvážit, zda odb. společnosti mohou iniciovat vznik (MZ ČR, ČLK, ČLS JEP, nezávislé) instituce pro externí kontrolu kvality v patologii.

