

**BIOLOGISCHE GEZONDHEIDSRISICO'S
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR PATHOLOGISCHE ANATOMIE
WERKGROEP EKE**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE
VOOR ANALYSES PATHOLOGISCHE ANATOMIE**

DEFINITIEF GLOBAAL RAPPORT

HISTOLOGIE – HE/PAS/Reticuline/Trichroom

ENQUETE 2022/1

Sciensano/Histologie/7-NL

Biologische gezondheidsrisico's
Kwaliteit van laboratoria
J. Wytsmanstraat, 14
1050 Brussel | België

www.sciensano.be

WERKGROEP EKE

Sciensano					
Secretariaat		TEL:	02/642.55.22	FAX:	02/642.56.45
Vanessa Ghislain	Enquêtecoördinator	TEL:	02/642.52.08		
		e-mail:	Vanessa.Ghislain@sciensano.be		
Leden werkgroep EKE	Instelling				
Gabriela Beniuga	IPG Gosselies				
Cecile Colpaert	ZNK Turnhout				
Bart De Wiest	OLV Aalst				
Caroline Fervaille	CHU UCL Namur				
Bart Lelie	AZ-ZENO Knokke-Heist				
Herwig Van Dijck	UZ Antwerpen				

Een voorlopige versie (draft) van dit rapport werd voorgelegd aan de leden van de werkgroep EKE op: 10/01/2023.

Dit rapport werd besproken in de vergadering van de werkgroep EKE van: /.

Autorisatie van het rapport : door Vanessa Ghislain, enquêtecoördinator

Publicatiedatum : 16/01/2023

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:
<https://www.sciensano.be/nl/kwaliteit-van-laboratoria/eke-histologie>

INHOUDSTAFEL

1. Inleiding	4
1.1. Doel van de EKE	4
1.2. Uitbestede activiteiten.....	4
1.3. Materiaal van de EKE	4
1.4. Vraag	4
1.5. Antwoordformulier.....	4
2. Beoordeling	4
2.1. Specifieke criteria	5
2.1.1. Kwaliteit van de coupe.....	5
2.1.2. HE kleuring.....	5
2.1.3. PAS kleuring.....	5
2.1.4. Reticuline kleuring	5
2.1.5. Trichroom kleuring.....	5
2.2. Eindbeoordeling.....	5
3. Resultaten	6
3.1. Deelname aan de EKE	6
3.2. Overzicht van de resultaten	6
3.3. Spreiding van de scores	7
3.3.1. Globale scores (kwaliteit van de coupe en HE)	7
3.3.2. Kwaliteit van de coupe.....	7
3.3.3. HE(S) scores	8
3.3.4. PAS scores.....	8
3.3.5. Reticuline scores	9
3.3.6. Trichroom scores.....	9
4. Bespreking van de resultaten	10
4.1. Globale scores (kwaliteit van de coupe en HE)	10
4.2. Kwaliteit van de coupe	10
4.3. HE(S) kleuring	10
4.4. PAS kleuring.....	12
4.5. Reticuline kleuring	13
4.6. Trichroom kleuring	14
4.7. Controlecoupes.....	15

1. Inleiding

Dit document bestaat uit een overzicht en een bespreking van de resultaten van de externe kwaliteitsevaluatie (EKE) Histologie 2022/1 (HE/PAS/Reticuline/Trichroom) en een samenvatting van de individuele opmerkingen en aanbevelingen.

1.1. DOEL VAN DE EKE

Deze EKE had als doel de kwaliteit van de coupe (snijden van paraffineblokken en monteren van de glaasjes), van de routine basiskleuring (HE/HES/HPS) en van 3 speciale histochemische kleuringen (PAS, reticuline en trichroom) te evalueren.

1.2. UITBESTEDE ACTIVITEITEN

De Commissie voor Pathologische Anatomie heeft ervoor gekozen om voor deze EKE samen te werken met AFAQAP (Association Française d'Assurance Qualité en Anatomie Pathologique) voor het toeleveren van het weefselmateriaal en ondersteuning m.b.t de evaluatie van de gekleurde coupes.

1.3. MATERIAAL VAN DE EKE

Het opgestuurde materiaal bestond uit :

- 1 paraffineblokje met leverweefsel, gefixeerd in 10% neutraal gebufferde formaline (reële verdunning 4%);
- 6 ongekleurde paraffinecoupes van 4µm met leverweefsel.

De homogeniteit van de stalen werd getest door AFAQAP. De stalen werden beschouwd als homogeen (in die zin dat elk panel van stalen identieke informatie bevat) en stabiel tot het einde van de analyseperiode.

1.4. VRAAG

Er werd gevraagd om coupes te maken van het blokje met leverweefsel en op één van deze coupes een HE(S) kleuring uit te voeren. Voor laboratoria die in routine geen leverweefsel snijden was het ook toegestaan een HE(S) uit te voeren op een blokje van het eigen laboratorium.

De aangeleverde blanco coupes met leverweefsel dienden voor het uitvoeren van een PAS kleuring, een reticuline kleuring en een trichroom kleuring.

Er werd gevraagd om de stalen te behandelen zoals patiëntenstalen, d.w.z. dat de stalen dienden geïntegreerd te worden in de routine samen met patiëntenstalen.

1.5. ANTWOORDFORMULIER

Er werd gevraagd een antwoordformulier in te vullen betreffende de gebruikte technieken. Dit formulier werd opgesteld door de enquêtecoördinator en werd meegestuurd met de stalen.

2. Beoordeling

De evaluatie van de coupes werd gezamenlijk en simultaan uitgevoerd door Jean-Pierre Bellocq (patholoog, AFAQAP, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg-FR), Jean-François Michiels (patholoog, AFAQAP, CHU Nice-FR), Marie-Paule Van Craynest (patholoog, Erasmusziekenhuis-BE) en Vanessa Ghislain (EKE coördinator, Sciensano-BE), in aanwezigheid van Caroline Egele (wetenschappelijk medewerker registratie, AFAQAP-FR). De evaluatie vond plaats op 5-6 oktober 2022 in het ziekenhuis Hautepierre van Strasbourg. Deze administratieve en wetenschappelijke structuur garandeert de kwaliteit en de anonimiteit van de resultaten.

2.1. SPECIFIEKE CRITERIA

2.1.1. Kwaliteit van de coupe

- adequate coupedikte
- aan-/afwezigheid van scheuren, plooien, strepen, kleurstofvlekken, losgekomen weefsel
- aan-/afwezigheid van contaminanten
- monteren

2.1.2. HE kleuring

Componenten van de kern :

- chromatine is duidelijk omschreven en blauw tot paarsachtig aangekleurd
- nucleolus is contrasterend blauw-paars aangekleurd
- kernmembraan is goed omschreven

Het cytoplasma toont :

- een goed contrast t.o.v. de extracellulaire matrix
- goed omschreven en oranje-rood aangekleurde eosinofiele granules
- heldere mucus

Componenten van de extracellulaire matrix :

- RBC zijn felrood
- collageen is geel-oranje aangekleurd (HES), fibrillair patroon zichtbaar door op en neer te bewegen doorheen de coupe

2.1.3. PAS kleuring

- granulaire, fel roze-rode aankleuring van glycogeen in het cytoplasma van de hepatocyten
- aankleuring van de basale membranen

2.1.4. Reticuline kleuring

- markering van reticulinevezels

2.1.5. Trichroom kleuring

- collageen blauw of groen aangekleurd
- kernen (chromatine) blauw-zwart aangekleurd
- cytoplasma, RBC en spiervezels felrood aangekleurd

2.2. EINDBEOORDELING

Elke kleuring kreeg een eindbeoordeling, gebaseerd op volgende criteria :

A	Optimaal	Resultaat perfect of de perfectie benaderend
B	Goed	Correct resultaat, enkele technische elementen zijn nog voor verbetering vatbaar
C	Gemiddeld	Technische kwaliteit net voldoende; te verbeteren
D	Onvoldoende	Technische kwaliteit slecht; technische verbeteringen zijn noodzakelijk

3. Resultaten

3.1. DEELNAME AAN DE EKE

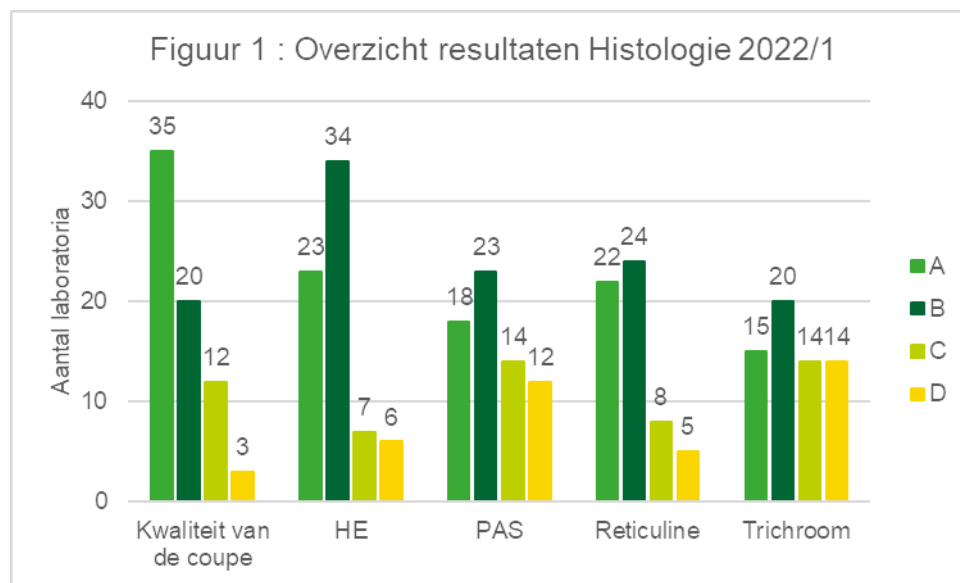
Het deelnamepercentage bedroeg 70/70 (100%).

Gewest	Aantal laboratoria dat coupes terugstuurde/ aantal ingeschreven laboratoria
Vlaams gewest	40
Brussels gewest	10
Waals gewest	20
Totaal	70

3.2. OVERZICHT VAN DE RESULTATEN

De scores voor de beoordeelde coupes zijn weergegeven in de onderstaande tabel.

Score	Kwaliteit van de coupe	HE	PAS	Reticuline	Trichroom
A – 5/5	35 (50%)	23 (33%)	18 (27%)	22 (37%)	15 (24%)
B – 4/5	20 (29%)	34 (48.5%)	23 (34%)	24 (41%)	20 (32%)
C – 2/5	12 (17%)	7 (10%)	14 (21%)	8 (13.5%)	14 (22%)
D – 1/5	3 (4%)	6 (8.5%)	12 (18%)	5 (8.5%)	14 (22%)
Totaal	70	70	67	59	63



3.3. SPREIDING VAN DE SCORES

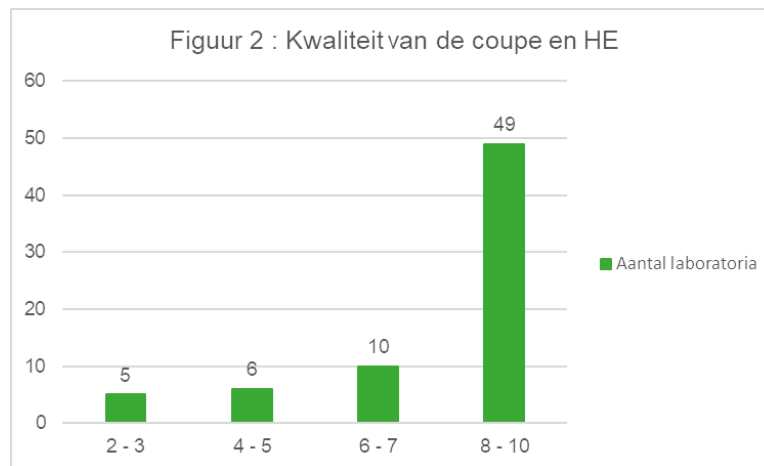
3.3.1. Globale scores (kwaliteit van de coupe en HE)

De globale score (op 10 punten) is de som van de punten voor de kwaliteit van de coupe en voor de HE(S) kleuring, berekend op volgende basis : A = 5, B = 4, C = 2, D = 1.

Score/10	Aantal laboratoria	%
2 – 3	5	7
4 – 5	6	9
6 – 7	10	14
8 – 10	49	70
Totaal	70	100

Globale score	
Gemiddelde	7.9
Mediaan	9.0

De mediaan is de middelste waarde van de scores, d.w.z. de minimumscore die door minstens de helft van de laboratoria werd behaald. De mediaan wordt, in tegenstelling tot het rekenkundig gemiddelde, veel minder beïnvloed door uitschieters. Omdat er laboratoria zijn waarvan de scores uitschieten naar beneden is de verdeling niet symmetrisch en ligt het gemiddelde lager dan de mediaan. Men kan verwachten dat, als er minder scores uitschieten naar beneden, het gemiddelde en de mediaan dichterbij elkaar zullen liggen.

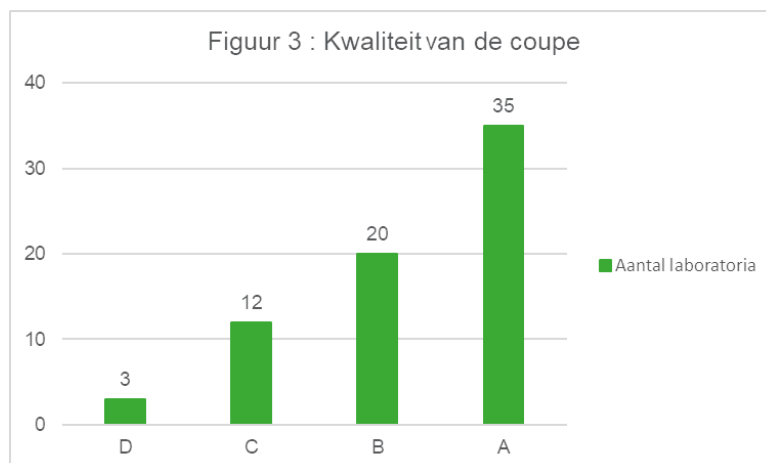


3.3.2. Kwaliteit van de coupe

De kwaliteit van de coupe werd beoordeeld op 5 punten.

Score	Aantal laboratoria	%
D – 1/5	3	4
C – 2/5	12	17
B – 4/5	20	29
A – 5/5	35	50
Totaal	70	100

Score coupe	
Gemiddelde	4.0
Mediaan	4.5

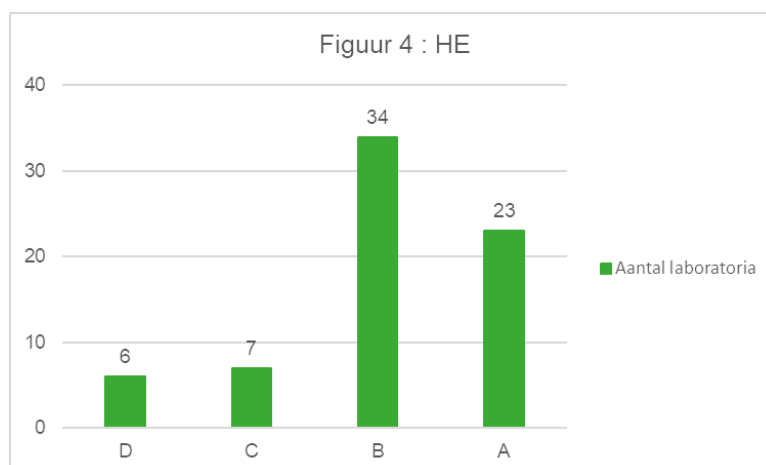


3.3.3. HE(S) scores

De HE(S) kleuring werd beoordeeld op 5 punten.

Score	Aantal laboratoria	%
D – 1/5	6	8.5
C – 2/5	7	10
B – 4/5	34	48.5
A – 5/5	23	33
Totaal	70	100

Score HE(S)	
Gemiddelde	3.9
Mediaan	4.0

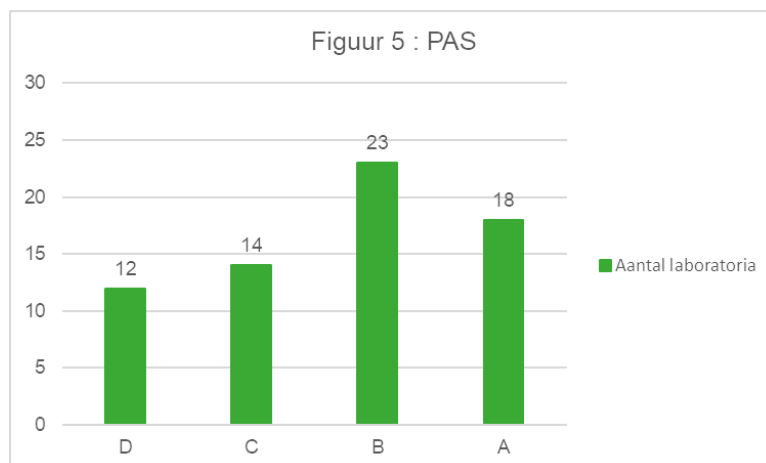


3.3.4. PAS scores

De PAS kleuring werd beoordeeld op 5 punten.

Score	Aantal laboratoria	%
D – 1/5	12	18
C – 2/5	14	21
B – 4/5	23	34
A – 5/5	18	27
Totaal	67	100

Score PAS	
Gemiddelde	3.3
Mediaan	4.0

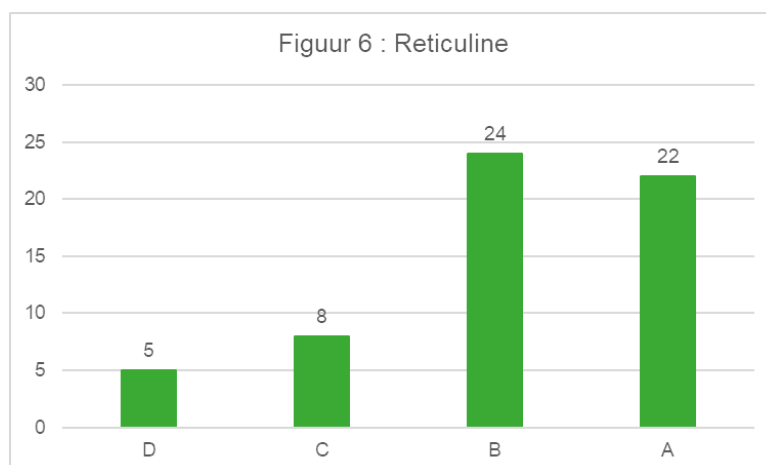


3.3.5. Reticuline scores

De reticuline kleuring werd beoordeeld op 5 punten.

Score	Aantal laboratoria	%
D – 1/5	5	8.5
C – 2/5	8	13.5
B – 4/5	24	41
A – 5/5	22	37
Totaal	59	100

Score Reticuline	
Gemiddelde	3.8
Mediaan	4.0

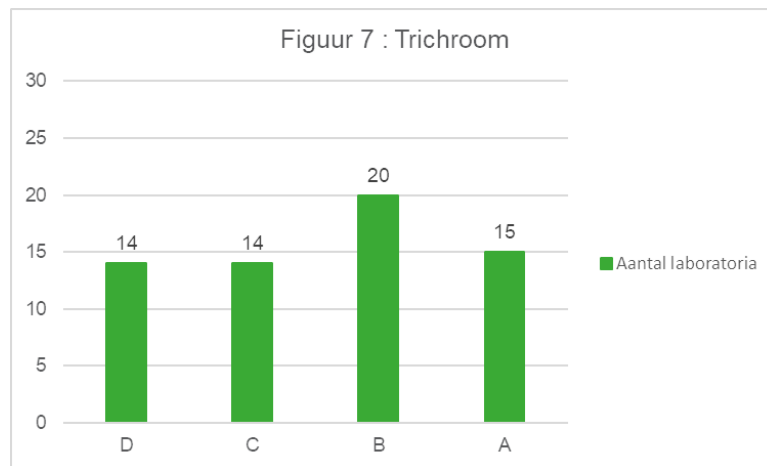


3.3.6. Trichroom scores

De trichroom kleuring werd beoordeeld op 5 punten.

Score	Aantal laboratoria	%
D – 1/5	14	22
C – 2/5	14	22
B – 4/5	20	32
A – 5/5	15	24
Totaal	63	100

Score Trichroom	
Gemiddelde	3.1
Mediaan	4.0



4. Bespreking van de resultaten

4.1. GLOBALE SCORES (KWALITEIT VAN DE COUPE EN HE)

De globale score (op 10 punten) is de som van de scores voor de kwaliteit van de coupe en voor de HE(S) kleuring. 49/70 deelnemers (70%) behaalden een score van minstens 8/10, d.w.z. dat ze op elk van beide onderdelen een optimaal (A) en/of goed (B) resultaat behaalden en op die onderdelen geen C (gemiddeld) en/of D (onvoldoende) behaalden (zie figuur 2).

4.2. KWALITEIT VAN DE COUPE

55/70 deelnemers (79%) behaalden een optimaal (A) of goed (B) resultaat voor het snijden van de blokken en het monteren van de glaasjes (zie figuren 1 en 3). De voornaamste oorzaken van een score C en D worden weergegeven in onderstaande tabel.

Probleem	Aantal laboratoria
Plooien	2
Vibraties	2
Strepen	3
Scheuren	5
Contaminatie	2
Te dikke coupe	1
Gerelateerd aan het strekken of drogen	1
Gerelateerd aan het monteren	1
Retractie-artefacten (coupe oververhit ?)	9

4.3. HE(S) KLEURING

De kleuring werd uitgevoerd volgens verschillende methodes :

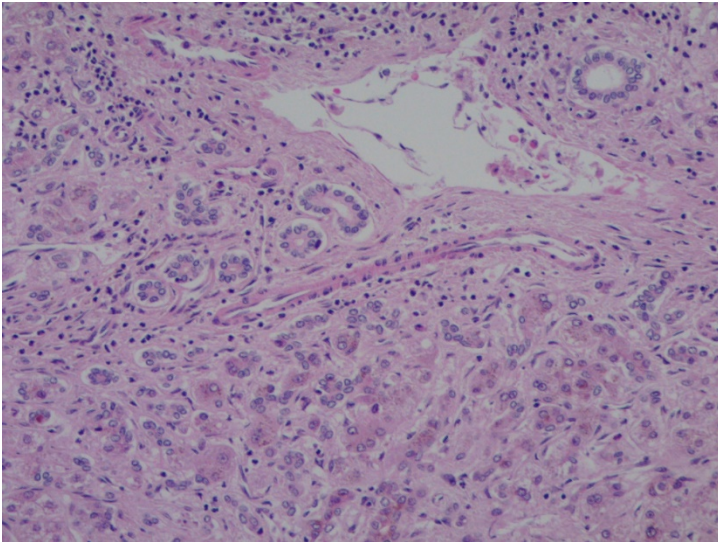
Kleuring	Aantal laboratoria	%
HE	65	93
HES	2	3
HESA*	1	1
Niet vermeld	2	3
Totaal	70	100

(*) Haematoxyline – Eosine – Saffraan – Astra blauw

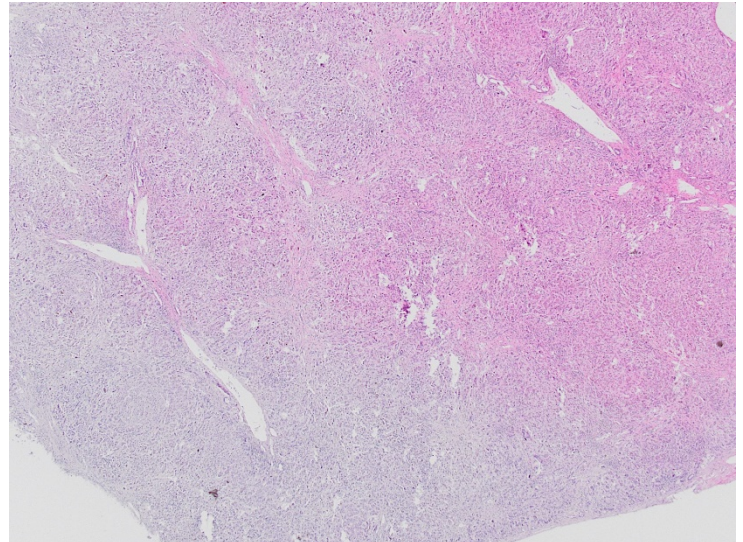
De kleuring werd door alle laboratoria uitgevoerd d.m.v. een automaat.

De basiskleuring was van optimale (A) of goede (B) kwaliteit bij 57/70 deelnemers (81%) (zie figuren 1 en 4). De voornaamste oorzaken van een score C en D worden weergegeven in onderstaande tabel.

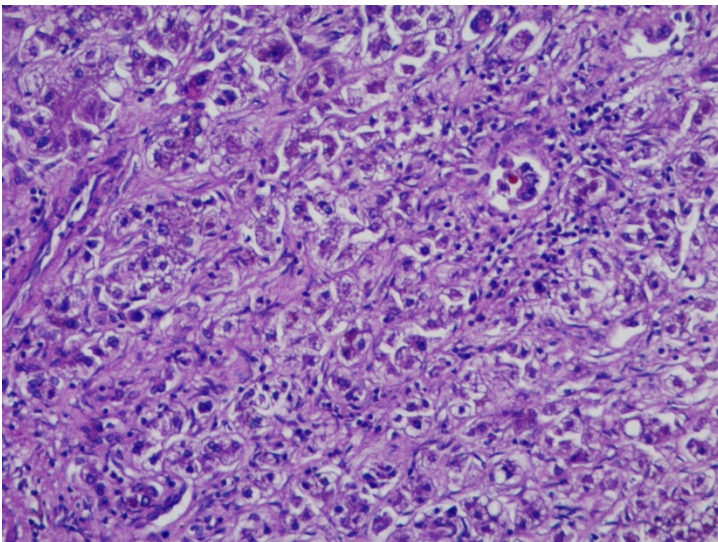
Probleem	Aantal laboratoria
Gebrek aan contrast	7
Kleurstofvlekken/neerslag van kleurstof	1
Onvoldoende intensiteit van de :	
eosine	7
hematoxyline	2
Heterogene kleuring, zone-effect	3



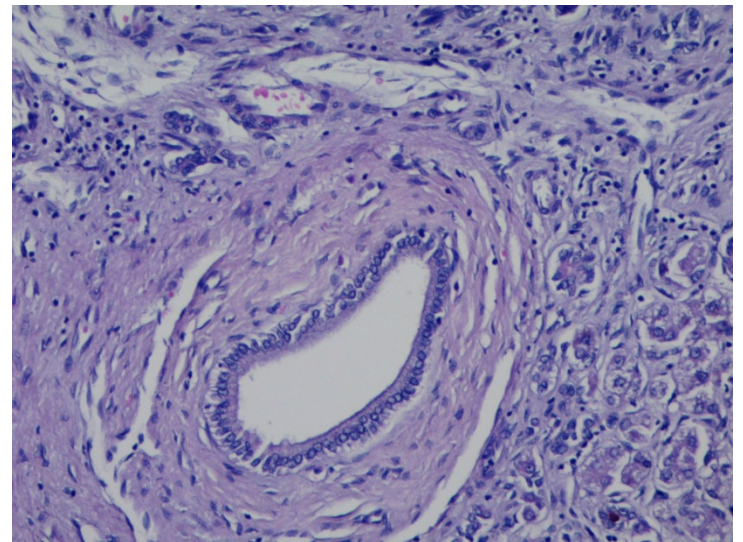
Score A : fijne coupe met voldoende contrast



Score D : heterogene kleuring : aanzienlijk zone-effect



Score D : te hoge dichtheid van kleurstoffen

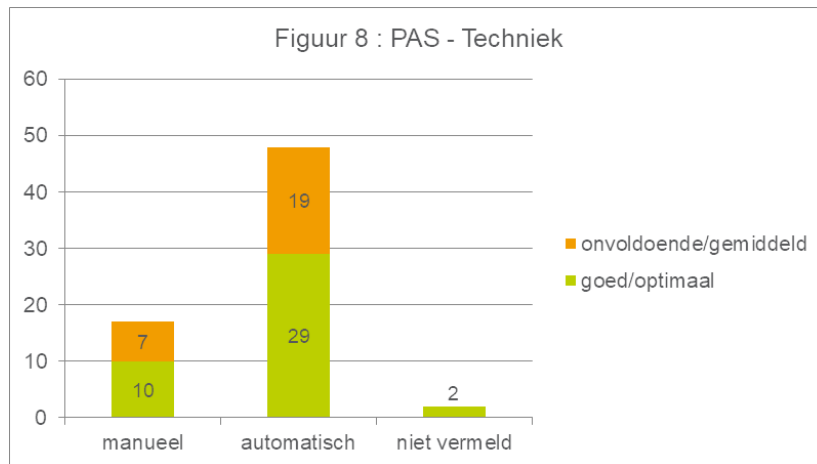


Score C : gebrek aan contrast; onvoldoende intensiteit van de eosine

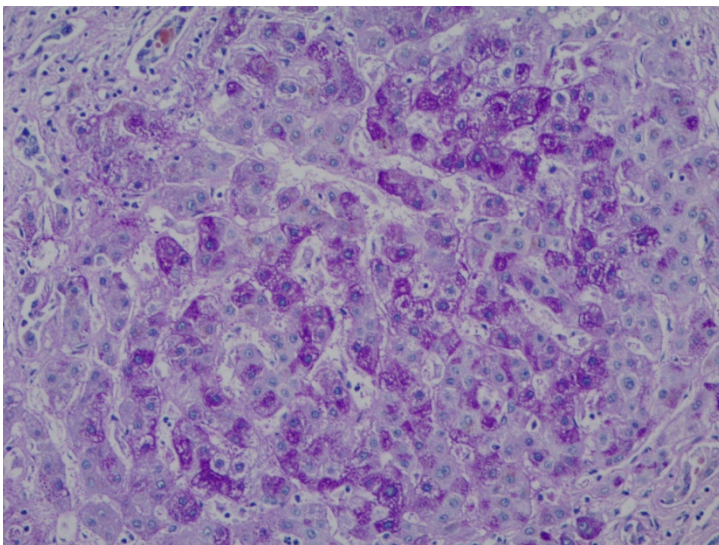
4.4. PAS KLEURING

De PAS kleuring was van optimale (A) of goede (B) kwaliteit bij 41/67 deelnemers (61%) (zie figuren 1 en 5).

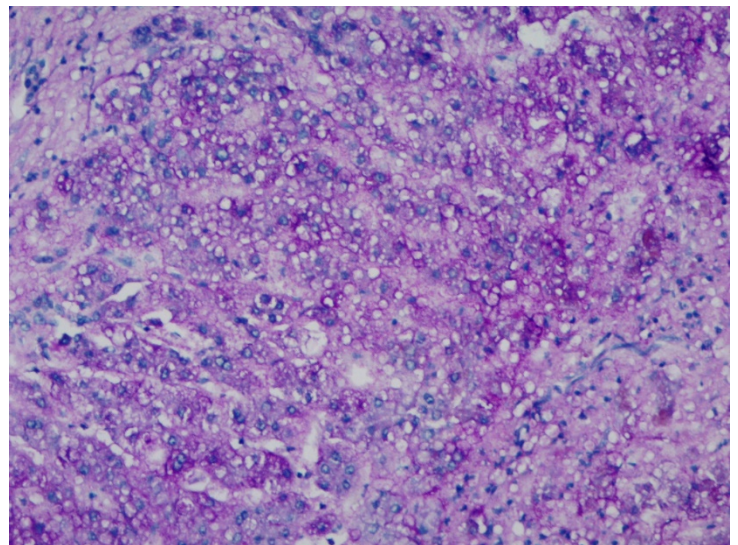
De kleuring werd door 17 laboratoria manueel uitgevoerd en door 48 laboratoria d.m.v. een automaat. 2 Laboratoria hebben de techniek niet gerapporteerd.



Aan 26 laboratoria werd een score C (14 laboratoria) of D (12 laboratoria) toegekend (zie figuren 1 en 5), voornamelijk te wijten aan een zwakke of onvoldoende aankleuring van glycogeen en/of de basale membranen.



Score A : geen opmerkingen

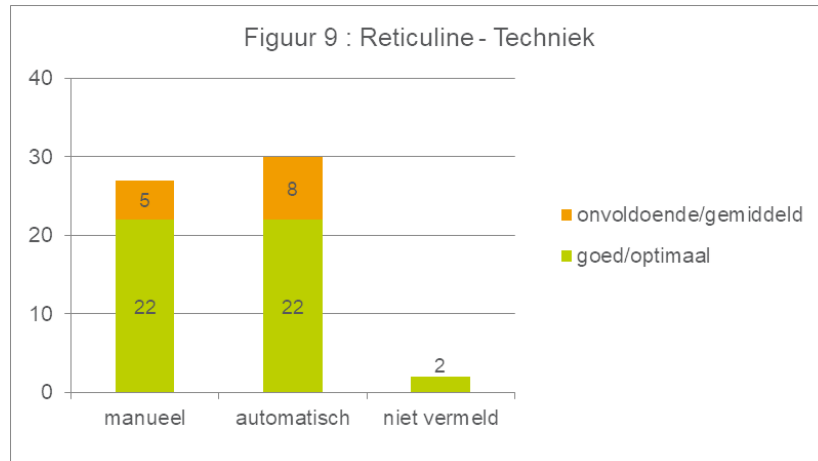


Score D : diffuse aankleuring van glycogeen; verstoorde morfologie; onverklaarbare vacuolisatie

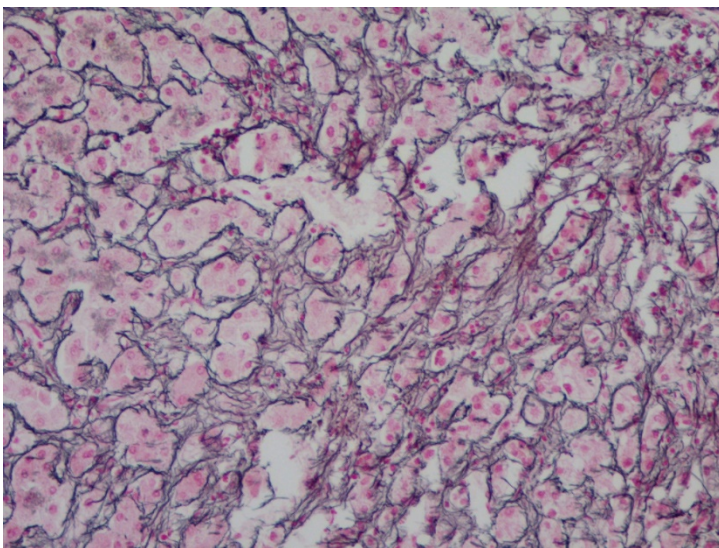
4.5. RETICULINE KLEURING

De reticuline kleuring was van optimale (A) of goede (B) kwaliteit bij 46/59 deelnemers (78%) (zie figuren 1 en 6).

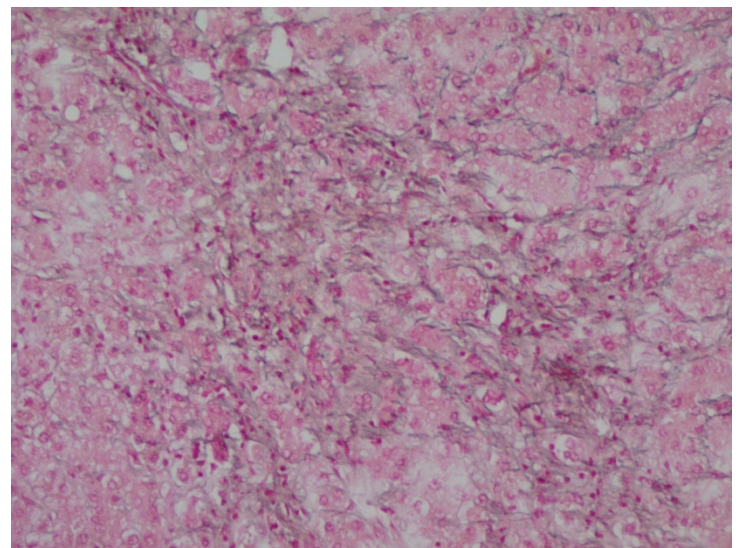
De kleuring werd door 27 laboratoria manueel uitgevoerd en door 30 laboratoria d.m.v. een automaat. 2 Laboratoria hebben de techniek niet gerapporteerd.



Aan 13 laboratoria werd een score C (8 laboratoria) of D (5 laboratoria) toegekend (zie figuren 1 en 6), voornamelijk te wijten aan een incomplete, zwakke of onvoldoende aankleuring van de reticulinevezels.



Score A : geen opmerkingen

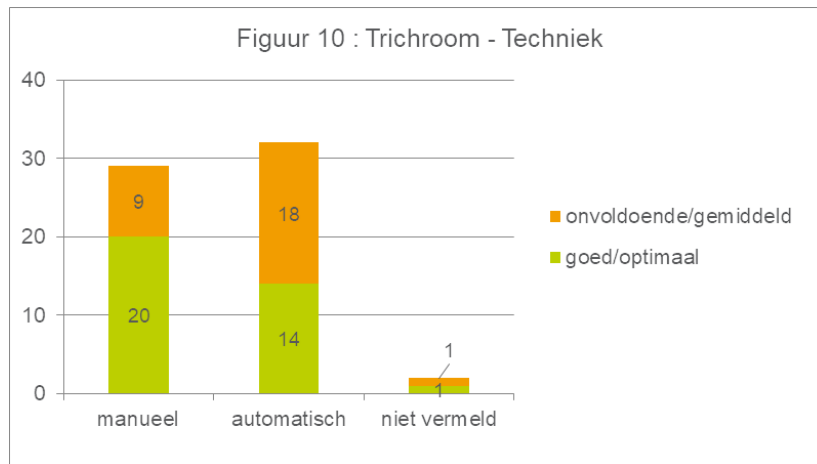


Score D : geen aankleuring van de reticulinevezels

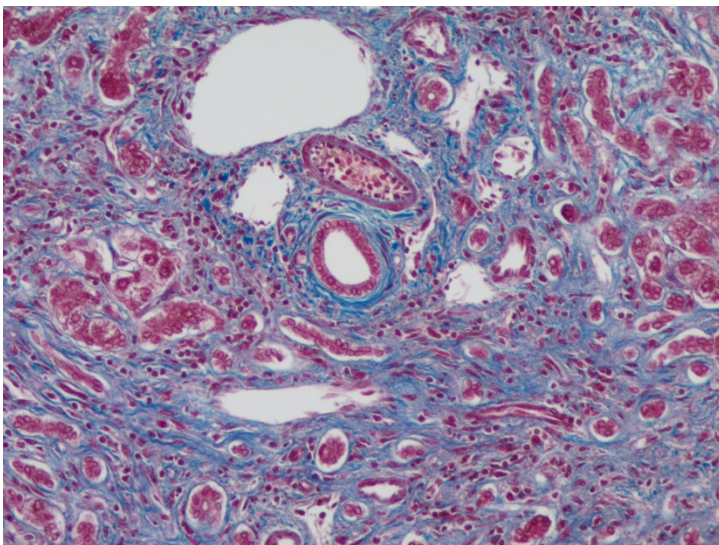
4.6. TRICHROOM KLEURING

De trichroom kleuring was van optimale (A) of goede (B) kwaliteit bij 35/63 deelnemers (56%) (zie figuren 1 en 7).

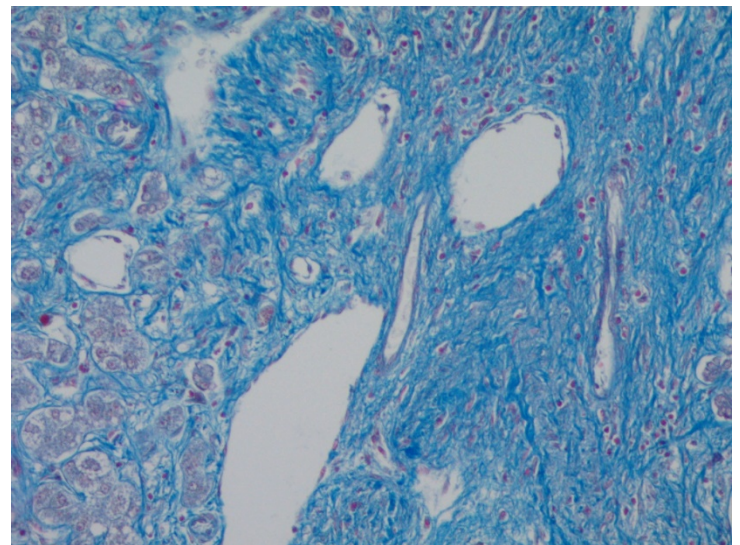
De kleuring werd door 29 laboratoria manueel uitgevoerd en door 32 laboratoria d.m.v. een automaat. 2 Laboratoria hebben de techniek niet gerapporteerd.



Aan 28 laboratoria werd een score C (14 laboratoria) of D (14 laboratoria) toegekend (zie figuren 1 en 7), voornamelijk te wijten aan een onvoldoende aankleuring van de collageenvezels en/of de gladde spiervezels.



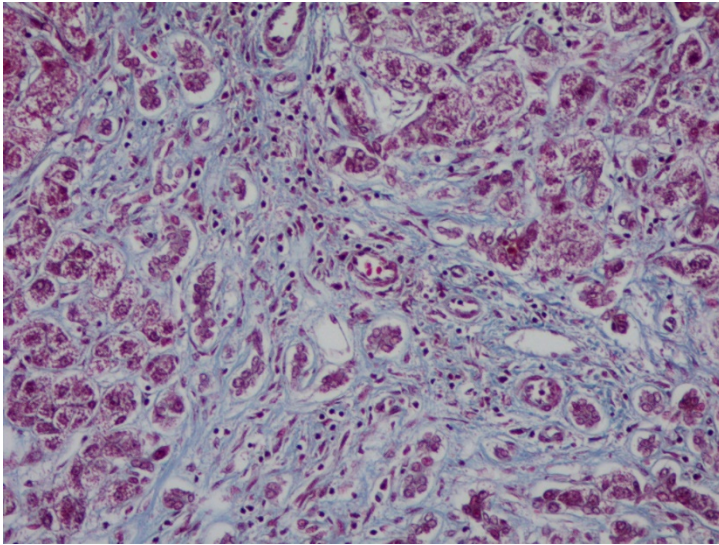
Score A : geen opmerkingen



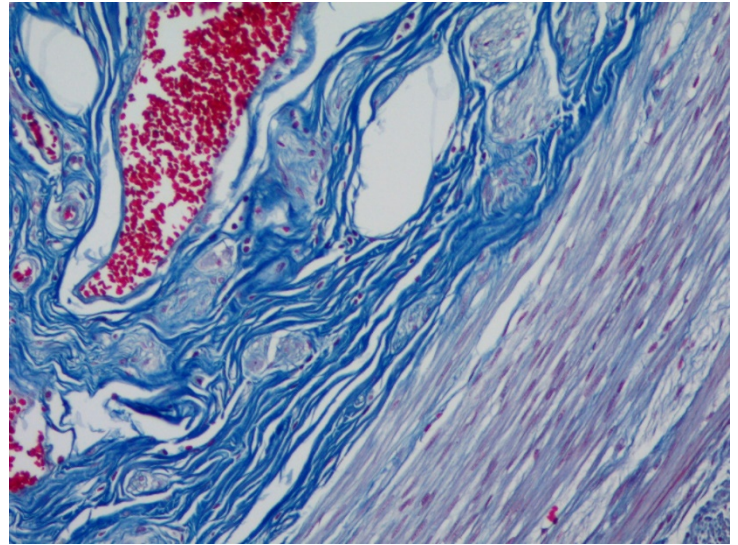
Score C : onvoldoende aankleuring van de gladde spiervezels

4.7. CONTROLECOUPES

Sommige deelnemers hebben op de stalen bestemd voor de speciale kleuringen een eigen controlecoupe toegevoegd, en dit op hetzelfde glaasje. In sommige gevallen hebben we een discordantie vastgesteld tussen de kleuring van de AFAQAP coupe en deze van de controlecoupe. D.w.z. dat het resultaat van de kleuring op de eigen controle beter was dan deze op de AFAQAP coupe. Dit is mogelijk te wijten aan de 'dubbele techniek' (dubbel verhitten) die de AFAQAP coupe heeft ondergaan. Bij AFAQAP werd het effect van het toevoegen van een extra coupe getest, maar er werd geen slechter resultaat gevonden. We kunnen hieruit echter geen duidelijke conclusies trekken, omdat we de condities die de deelnemers hebben gebruikt (bv. de temperatuur van droogoven en verwarmplaat) niet kennen en dus niet kunnen reproduceren.



Score D (coupe AFAQAP) : onvoldoende aankleuring van de collageenvezels



Score A (zelfde laboratorium, eigen controleweefsel) : discordantie tussen coupe AFAQAP en eigen controle

EINDE

© Sciensano, Brussel 2023.

Dit rapport mag niet gereproduceerd, gepubliceerd of verdeeld worden zonder akkoord van Sciensano. De individuele resultaten van de laboratoria zijn vertrouwelijk. Zij worden door Sciensano niet doorgegeven aan derden, noch aan de leden van de Commissie, de expertencomités of de werkgroep EKE.