

UK NEQAS for
Immunocytochemistry & In-Situ Hybridisation
Manuale del Partecipante
(Italian Handbook)
2023-2024



Author: A Dodson

Date of issue: February 2023
Approved by: S Parry

7833

NEQ MP7 v2023-2024

Page 1 of 32

UK NEQAS for Immunocytochemistry & In-Situ Hybridisation

Distributore

CODEX S.r.l.

Via A. Vespucci 12, 16156 Genova

Tel. 010 6671491

Fax 010 6967166

e-mail info@codexitalia.it

PEC info@pec.codexitalia.it

www.codexitalia.it

1. INTRODUZIONE

Le origini del National External Quality Assessment Scheme for Immunocytochemistry and In-Situ Hybridisation (UK NEQAS ICC & ISH) del Regno Unito risalgono a uno schema di scambio di vetrini della VEQ avviato nel 1985 da Gerry Reynolds. A quel tempo Gerry era uno scienziato di laboratorio medico che lavorava come capo nei laboratori di istopatologia del Mount Vernon Hospital di Londra.

Lo schema crebbe rapidamente quando la nuova scienza dell'immunocitochimica cominciò ad essere più ampiamente utilizzata nei laboratori diagnostici del NHS e nel 1988 il Dipartimento della Salute del Regno Unito riconobbe lo schema. Da quel momento, è stato conosciuto come UK National External Quality Assessment Scheme for Immunocytochemistry (UK NEQAS ICC) e successivamente, quando le metodologie di ibridazione in situ hanno iniziato ad emergere nei regimi di test, la valutazione dei laboratori di istopatologia è stata incorporata e lo schema è stato rinominato in UK NEQAS ICC & In-situ Hybridisation.

STRUTTURA GENERALE

UK NEQAS ICC & ISH offre valutazioni di immunocitochimica e tecniche di ibridazione in situ. Queste valutazioni sono effettuate a intervalli uniformemente distanziati, circa ogni tre mesi durante l'anno della VEQ, che va da aprile a marzo. I dettagli di ciascun modulo possono essere trovati nelle pagine che seguono. I partecipanti sono incoraggiati a partecipare a quei moduli che sono compatibili con la gamma di immunocitochimica eseguita nel loro laboratorio.

ACCREDITAMENTO

UK NEQAS ICC & ISH è gestito rigorosamente senza scopo di lucro.

- Lo schema è membro del National External Quality Assessment Service (UK NEQAS), una società a responsabilità limitata e un ente di beneficenza registrato nel Regno Unito.
- UK NEQAS ICC & ISH è accreditato da UK Accreditation Services (UKAS) ISO: 17043. Numero fornitore di test valutativi: 7833.
- L'hosting del programma è fornito da External Quality Assessment Services for Cancer Diagnostics (EQAS-CD), una società di interesse comunitario (EQAS-CD).

UNO SCHEMA ACCREDITATO

UK NEQAS ICC & ISH è un fornitore di prove valutative accreditate UKAS n. 7833. Nel suo insieme e in tutti i singoli moduli di valutazione, il Programma opera secondo lo standard riconosciuto a livello internazionale [vedere Nota 1]:

ISO 17043:2010 Valutazione della conformità - Requisiti generali per le prove valutative

[Nota 1. I moduli pilota in fase di sviluppo non sono accreditati. L'accREDITAMENTO di questi è ottenuto prima di introdurli come moduli completi].

VANTAGGI DELLA PARTECIPAZIONE A UK NEQAS ICC & ISH

Il mandato del Piano va oltre la valutazione della qualità tecnica delle preparazioni presentate dai suoi partecipanti.

Un obiettivo chiave del programma è l'istruzione per migliorare la qualità.

Pertanto, l'elenco dei vantaggi che fornisce è ampio:

- Conformità alla norma ISO 15189:2012 relativa alla partecipazione a uno schema EQA.
- Vengono effettuate quattro sessioni di valutazione all'anno.
- Moduli specifici si rivolgono alle aree specialistiche della patologia.

- Per ogni ciclo di valutazione vengono valutati due antigeni per tutti i moduli di biomarcatori diagnostici.
- Valutazione del materiale distribuito dal UK NEQAS e dei campioni interni dei partecipanti.
- Web data entry e accesso ai singoli report riservati
- Feedback costruttivo del valutatore.
- Grafico di benchmarking individuale per tenere traccia delle prestazioni nel tempo.
- Grafici di frequenza che illustrano la distribuzione dei punteggi dei partecipanti per ciascuna corsa.
- Immagini a colori che mostrano la dimostrazione ottimale e subottimale degli antigeni.
- Tabelle dei principali anticorpi e reagenti immunocitochimici utilizzati dai partecipanti.
- Esempi di "metodi migliori" e database di "metodi migliori" interattivi consultabili sul web.
- Un certificato di partecipazione di fine anno (per quei partecipanti che inviano materiali a due o più esecuzioni) insieme a una relazione annuale.
- Altri articoli e recensioni dal programma.
- Recensioni e articoli del modulo.
- Partecipanti "Help-line" e dettagli su come ottenere consigli.
- Rinvio per il servizio di opinione.
- Incontri e workshop scientifici del gruppo di utenti partecipanti

UNO SCHEMA INTERNAZIONALE

Lo schema accoglie laboratori con sede nel Regno Unito e non nel Regno Unito.

Attualmente conta partecipanti provenienti da oltre 50 paesi.

Tutti i contributi, indipendentemente dal paese di origine del partecipante, vengono valutati esattamente nello stesso modo nelle stesse sessioni di valutazione. La valutazione dei vetrini viene effettuata in modo anonimo e i valutatori sono all'oscuro di tutte le caratteristiche identificative di tutti i centri partecipanti.

COMPITO FORMATIVO

Uno degli obiettivi principali del servizio è quello di fornire informazioni utili su metodi e reagenti che consentano una migliore qualità dell'immunocitochimica. A tal fine, i principali passaggi tecnici impiegati dai partecipanti alla valutazione vengono raccolti in un database. I risultati di queste analisi vengono successivamente forniti come feedback ai laboratori sotto forma di dati tabulati che mostrano informazioni sui tassi di passaggio, sui reagenti, sull'automazione e sul sistema di rilevamento utilizzato. Vengono inoltre forniti i metodi migliori insieme a immagini di esempi buoni e scarsi di colorazione IHC e ISH.

SERVIZI IN SUBAPPALTO

UK NEQAS ICC & ISH si avvale di fornitori esterni, comprese organizzazioni commerciali e del settore pubblico, sia nel Regno Unito che all'estero per:

- Fornire materiale EQA, inclusi tessuti e linee cellulari fissati in formalina e inclusi in paraffina e preparati citologici.
- Fornire servizi di taglio di sezioni.
- Fornire campioni colorati a scopo di convalida e riferimenti "standard".

Se del caso, per la fornitura di questi servizi vengono utilizzati fornitori accreditati.

Indipendentemente da ciò, UK NEQAS ICC & ISH valuta la competenza dei fornitori a fornire i servizi appaltati prima di assumerli. Tutto il materiale VEQ viene controllato e convalidato da UK NEQAS ICC & ISH prima della spedizione ai partecipanti e lo Schema si assume la responsabilità nei confronti dei suoi partecipanti per tutti i lavori e servizi subappaltati [Nota 1].

[Nota 1. Alcuni partecipanti stranieri riceveranno il materiale EQA tramite un distributore di terze parti autorizzato che riceve il materiale direttamente da UK NEQAS ICC & ISH].

MODULES

I moduli disponibili sono mostrati nella Tabella 1.

| Codice | Descrizione del Modulo VEQ |
|--------|---|
| | |
| 1 | General Pathology |
| 4 | Lymphoid Pathology |
| 5 | Neuropathology |
| 6 | Cytopathology |
| 13 | Mis-Match Repair Proteins (MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2) |
| | |
| | Carcinoma Mammario |
| 2a | Oestrogen Receptor (ER) |
| 2b | Oestrogen and Progesterone Receptor (ER and PgR) |
| 3 | HER2 protein over-expression by immunohistochemistry HER2 protein LOW over-expression by immunohistochemistry (see NOTE 1) |
| 9 | HER2 gene amplification by <i>in-situ</i> hybridisation - Technical and Interpretive |
| 15 | PD-L1 protein over-expression in Triple Negative Breast Cancer (TNBC) (Pilot) |
| 16 | Ki-67 (Pilot) |
| | |
| | Carcinoma polmonare NSC (NSCLC) |
| 10 | ALK protein over-expression by immunocytochemistry |
| 11 | PD-L1 protein over-expression (Pilot) |
| 14 | ROS1 protein over-expression by immunocytochemistry (Pilot) |
| 12a | ALK gene translocation by <i>in-situ</i> hybridisation (Pilot) |
| 12b | ROS1 gene translocation by <i>in-situ</i> hybridisation (Pilot) |
| 12 | Both ALK and ROS1 gene translocation by <i>in-situ</i> hybridisation (Pilot) |
| | |
| | Carcinoma del tratto intestinale |
| 7 | CD117 and associated GIST markers |
| 8 | HER2 protein over-expression in gastric cancer |
| | |
| | Carcinoma a cellule squamose della testa e del collo (HNSCC) |
| 17a | p16 protein over-expression (Pilot) |
| 17b | High-Risk Human Papilloma Virus (HPV) protein or RNA expression (Pilot) |
| 17 | Both p16 and High-Risk HPV (Pilot) |

Table 1. Moduli esistenti

2. PROCEDURA DI REGISTRAZIONE

Si raccomanda ai laboratori che desiderano partecipare a uno o più moduli UK NEQAS ICC & ISH di leggere le descrizioni dettagliate di ciascuno dei moduli e di scegliere di partecipare a quei moduli che coprono la gamma di marcatori utilizzati abitualmente nel proprio laboratorio

I moduli di iscrizione e ulteriori informazioni sulla registrazione possono essere ottenuti contattando per l'Italia:

CODEX SRL

VIA VESPUCCI 12

16156 GENOVA

TEL. 0106671491

MAIL: INFO@CODEXITALIA.IT

3. LINEE GUIDA E PROCEDURE

DISTRIBUZIONE DEI VETRINI

Prima di ogni sessione di valutazione, i partecipanti ricevono:

- Due vetrini da microscopio duplicati, ciascuno recante i materiali di controllo UK NEQAS ICC e ISH appropriati .
- Una "lettera di accompagnamento" della valutazione che fornisca informazioni e istruzioni (una copia viene inviata anche al indirizzo e-mail di contatto del laboratorio partecipante).
- Fogli di istruzioni specifici per moduli più dettagliati possono essere trovati sul sito Web UK NEQAS ICC & ISH.

Per tutti i Moduli (ad eccezione del Modulo di Citologia nei casi in cui sono richieste preparazioni di cytospin):

- l'area verso l'estremità dell'etichetta del vetrino contiene campioni EQA forniti da UK NEQAS ICC & ISH .
- l'area all'estremità inferiore del vetrino viene utilizzata dai partecipanti per montare i propri campioni/controlli interni.
- I vetrini sono distribuiti con le sezioni montate "non cotte".
- Al ricevimento, i partecipanti devono montare il proprio materiale di controllo interno sullo stesso vetrino che contiene le sezioni UK NEQAS ICC e ISH.
- Dopo aver montato i propri materiali di controllo, i partecipanti devono riscaldare i vetrini in un forno per l'asciugatura dei vetrini a 37°C durante la notte a 55-60°C per 1 ora per garantire un'adeguata adesione della sezione.
- Non appena possibile dopo che l'asciugatura del vetrino è stata completata, i partecipanti devono eseguire la procedura di colorazione di routine.

Per convenzione, i vetrini da microscopio distribuiti dallo Schema sono separati in due aree (illustrate nella Figura 1):

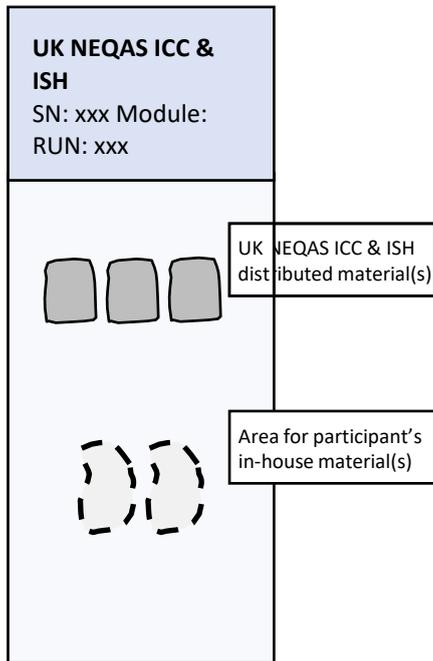


Figura 1. Distribuzione dei campioni su vetrino.

È molto importante che i partecipanti preparino campioni di controllo appropriati per l'antigene che viene valutato. Idealmente, i tessuti di controllo scelti dovrebbero rientrare nell'area designata sullo stesso vetrino che contiene le sezioni UK NEQAS ICC & ISH. Se ciò non è possibile, è consentito montarli su una slitta separata.

Modulo citologico Solo cytospin: i partecipanti che richiedono campioni di cytospin come materiale distribuito NEQAS nel Regno Unito devono inviare un vetrino separato per il loro campione di controllo interno; il campione interno dovrebbe idealmente essere un cytospin da una preparazione citologica.

Inoltre, il metodo di colorazione eseguito dovrebbe essere lo stesso sia per i campioni NEQAS distribuiti nel Regno Unito che per i campioni interni. I partecipanti che richiedono un campione di blocco cellulare devono posizionare la loro sezione interna sullo stesso vetrino del campione UK NEQAS, ove possibile.

ANTICORPO NON DISPONIBILE

Se un partecipante non dispone di un anticorpo adatto contro l'antigene scelto per la valutazione, è NECESSARIO contattare gli uffici Codex srl (info@codexitalia.it) che provvederanno a contattare NEQAS ICC e ISH del Regno Unito per concordare un'alternativa adeguata.

Si noti che, prima che ciò sia stato concordato, il team UK NEQAS ICC & ISH potrebbe fare riferimento all'anticorpo di quell'anno dichiarazione di repertorio fatta dal partecipante per confermare il non accesso all'anticorpo.

I dati che UK NEQAS ICC & ISH raccoglie annualmente tramite l'indagine sugli anticorpi aiuta a determinare quali antigeni saranno scelti come "antigeni fissi" per l'anno EQA: lo schema cerca di includere principalmente quegli antigeni contro i quali gli anticorpi adeguati sono immagazzinati da almeno 95 % di laboratori. Detto questo, si prevede che la maggior parte dei laboratori disporrà di anticorpi contro la maggior parte degli antigeni elencati.

Tuttavia, UK NEQAS riconosce che ci sono diversi centri specializzati, che possono immagazzinare e utilizzare marcatori solo all'interno della loro area di competenza.

Se viene fornito un anticorpo alternativo, i vetrini verranno trattati e contrassegnati allo stesso modo dell'originale

WEB BASED DATA ENTRY SYSTEM E ACCESSO ONLINE AI REPORTS

I partecipanti hanno accesso al sistema di inserimento dati e report web UK NEQAS ICC & ISH, che fornisce:

- Istruzioni complete per ogni valutazione.
- Rapporti di valutazione specifici dei singoli partecipanti.
- Immagini di valutazione selezionate che mostrano risultati di colorazione ottimali e caratteristiche comuni di colorazione al di sotto degli standard.
- Risultati della corsa di valutazione presentati graficamente e in formato tabulato.

PROCEDURA DI VALUTAZIONE

In genere, ai partecipanti viene chiesto di dimostrare due diversi antigeni ad ogni ciclo di valutazione (eccetto nei Predictive Biomarker Modules, dove ad ogni ciclo viene esaminato un antigene/gene).

Ai partecipanti viene chiesto di colorare le sezioni UK NEQAS ICC & ISH utilizzando il loro metodo di routine e di restituire la migliore per la valutazione, insieme al normale vetrino di controllo interno posizionato sullo stesso vetrino dei materiali UK NEQAS ICC & ISH.

Per alcuni Moduli, potremmo richiedere uno degli antigeni da una valutazione all'altra nel corso dell'anno EQA come "Gold Standard". Ciò consente ai partecipanti di implementare le modifiche raccomandate se la loro qualità della colorazione immunocitochimica risulta non ottimale e di testare una tecnica migliorata alle valutazioni successive o successive.

I partecipanti sono inoltre invitati a completare i dettagli dell'anticorpo e del metodo che hanno impiegato sui moduli di raccolta dati basati sul web.

I vetrini restituiti vengono valutati per la qualità tecnica da un gruppo di valutatori esperti composto da un misto di scienziati biomedici senior, scienziati clinici, istopatologi consulenti e citopatologi. Tutti i valutatori vengono valutati, approvati e opportunamente formati dal team di gestione del Programma prima di valutare i contributi EQA dei partecipanti.

3. PUNTEGGIO DI VALUTAZIONE E INTERPRETAZIONE

Questa sezione descrive in dettaglio le linee guida utilizzate dai valutatori per assegnare un punteggio agli invii dei partecipanti.

GUIDA GENERALE ALLA VALUTAZIONE

1. Ciascuno dei quattro valutatori assegna in modo indipendente un punteggio di "5" utilizzando le linee guida riportate nella Tabella 2.
2. I voti vengono sommati per dare un punteggio finale in 20.
3. Un livello accettabile di colorazione è indicato da un punteggio di almeno 13/20.
4. Un punteggio accettabile al limite di 12/20 indica che sebbene la colorazione possa mostrare una certa rilevanza clinica, la colorazione non è ottimale e sono necessari miglioramenti.
5. Un punteggio di 8/20 o inferiore viene assegnato per una scarsa qualità dell'immunocitochimica, che non ha rilevanza clinica. Sono necessari miglioramenti significativi.

GUIDA ALL'ASSEGNAZIONE DEI VOTI DEI VALUTATORI

La tabella 2, nella pagina successiva, mostra in sintesi i criteri utilizzati dai nostri valutatori per l'assegnazione dei voti. Si noti che, laddove i voti sono stati detratti, il motivo verrà solitamente mostrato sui rapporti dei singoli partecipanti. E, laddove vengono assegnati punteggi pari o inferiori a "3", i valutatori sono tenuti a fornire commenti di feedback per spiegare il motivo e fornire consigli per azioni correttive. Nel caso di controlli interni, i punti possono essere detratti per l'uso di materiali di controllo inappropriati e/o inadeguati.

PATTO TRA I VALUTATORI

È consentita una variazione di 1 punto tra i valutatori durante la valutazione di una determinata presentazione, ad es. un mix di 4 e 5 è accettabile. Ciò consente una maggiore "granularità" nel punteggio finale ottenuto e riflette il fatto che in una certa misura il punteggio assegnato da un singolo valutatore ha inevitabilmente un elemento di variabilità soggettiva ad esso collegato.

| PUNTEGGIO VALUTATORE | INTERPRETAZIONE |
|----------------------|--|
| 0 | Nessuna sottomissione |
| 1 | Illeggibile Clinicamente non interpretabile. La colorazione non ha alcuna utilità. Miglioramento essenziale. Nessuna dimostrazione significativa dell'antigene richiesto. Eccessiva colorazione aspecifica e/o inappropriata. Notevole danno morfologico causato da un pretrattamento eccessivo. Qualità del tessuto o della sezione molto scadente. Un'eccessiva colorazione di contrasto con ematosilina oscura completamente la colorazione specifica ICC. |
| 2 | Preparazione subottimale che è clinicamente pericolosa Clinicamente non interpretabile. La colorazione non ha alcuna utilità. Miglioramento essenziale. Dimostrazione molto debole dell'antigene richiesto, significativamente al di sotto del livello previsto. Per i biomarcatori quantitativi: colorazione più forte del livello previsto. Eccessiva colorazione aspecifica e/o inappropriata. Notevole danno morfologico causato da un pretrattamento eccessivo. Qualità del tessuto/sezione molto scadente. Ematosilina di contrasto eccessiva o molto debole/assente. |
| 3 | Preparazione subottimale che è clinicamente leggibile Sebbene clinicamente interpretabile con l'immunocolorazione considerata appropriata per il target in questione, la qualità della colorazione è subottimale e il miglioramento è essenziale. Dimostrazione debole dell'antigene, al di sotto del livello previsto. È presente una colorazione non specifica e/o inappropriata, ma non la rende non interpretabile. Alcuni danni morfologici causati da un pretrattamento eccessivo. Scarsa qualità del tessuto/sezione. Colorazione di contrasto con ematosilina eccessiva o molto debole. |
| 4 | Buona preparazione che è clinicamente leggibile Clinicamente interpretabile con immunocolorazione appropriata per il target in questione e di buona qualità. Sono possibili piccoli miglioramenti. Dimostrazione dell'antigene richiesto, al livello di sensibilità previsto. Nessuna colorazione aspecifica e/o inappropriata. Buona conservazione tissutale e morfologica. Corretto livello di ematosilina contrasto. Alcuni aspetti minori della preparazione non sono ottimali. |
| 5 | Eccellente preparazione che è clinicamente leggibile Ottimo preparatoClinicamente interpretabile con immunocolorazione adeguata al target in questione e di ottima qualità. Non sono richiesti miglioramenti. Dimostrazione dell'antigene richiesto, al livello di sensibilità previsto. Nessuna colorazione aspecifica e/o inappropriata. Buona conservazione tissutale e morfologica. Corretto livello di ematosilina contrasto. zione clinicamente leggibile |

Tabella 2. Punteggi dei singoli valutatori e loro interpretazione.

I punteggi tra due valutatori qualsiasi che variano di >1 punto non sono considerati sufficientemente allineati, ad esempio un punteggio di 3 e un punteggio di 5. Vengono automaticamente "contrassegnati" dal software di valutazione in tempo reale. E, in tali situazioni, i valutatori sono tenuti a concordare punteggi modificati più strettamente allineati mediante un processo di revisione del consenso.

DISTINZIONE TRA IL PUNTEGGIO '3' E '2'

Un'eccezione alla procedura di consentire una variazione di 1 punto si verifica quando i valutatori fanno la distinzione tra colorazione che è sostanzialmente sub-ottimale, ma ancora clinicamente leggibile (punteggio = 3), e colorazione che è sub-ottimale al grado di essere di nessun valore clinico (punteggio = 2). Queste due categorie di punteggio si escludono a vicenda e pertanto richiediamo il consenso unanime tra i nostri valutatori sull'una o sull'altra di esse.

Di conseguenza, i punteggi di valutazione combinati di "9", "10" e "11" non sono più assegnati ai contributi dei partecipanti dal Programma.

VALUTAZIONE COMBINATA DEL PUNTEGGIO

I partecipanti ricevono un punteggio di valutazione combinato come indicazione finale della qualità della colorazione. La tabella 3 fornisce un'indicazione di come questi punteggi dovrebbero essere interpretati e quali azioni, se del caso, sono necessarie

| PUNTEGGIO FINALE | INTERPRETAZIONE |
|------------------|--|
| 0 | Nessun inserimento |
| 4 - 8 | Inaccettabile Illeggibile/clinicamente ininterpretabile. La colorazione non ha alcuna utilità. Miglioramento essenziale. |
| 12 | Appena accettabile Sebbene clinicamente interpretabile con l'immunocolorazione considerata appropriata per il target in questione, la qualità della colorazione è subottimale e il miglioramento è essenziale. |
| 13 - 15 | Accettabile Clinicamente interpretabile con immunocolorazione appropriata per il target in questione e di buona qualità. Sono necessari miglioramenti. |
| 16 - 20 | Buono o Eccellente Clinicamente interpretabile con immunocolorazione appropriata per il target in questione e di qualità da buona a eccellente. Potrebbero essere possibili piccoli miglioramenti. |

Tabella 3. Interpretazione del punteggio finale, prodotto dai punteggi combinati dei 4 valutatori.

GUIDA ALLA VALUTAZIONE BREAST HER2 IHC

In questa valutazione vengono utilizzati i seguenti criteri e procedure:

- I valutatori valutano ciascuno dei campioni distribuiti dal NEQAS nel Regno Unito e forniscono un'interpretazione sulla colorazione della membrana.
- Ciascuno dei quattro valutatori ottiene un punteggio in modo indipendente utilizzando un metodo adattato inizialmente ideato dal Clinical Trials Assay in cui vengono considerate sia la percentuale di positività che l'intensità della membrana.
- I valutatori forniscono un punteggio complessivo di "5", sommando i voti dei quattro valutatori per ottenere un punteggio di "20".
- I campioni di linee cellulari vengono solitamente distribuiti per il modulo Breast HER2 IHC.
- A causa della natura delle linee cellulari, possono mostrare un intervallo di vitalità cellulare compreso tra il 30 e il 90%.

Pertanto, i criteri di colorazione percentuale complessivi non possono essere applicati con precisione a ciascuna linea cellulare e, per questo motivo, le sezioni di riferimento vengono preparate colorando ogni 50a-53a sezione di taglio utilizzando kit/dosaggi standardizzati HER2 IHC (Agilent Dako HercepTest, Leica Oracle e Ventana Pathway 4B5).

Ciò fornisce un punto di riferimento per valutare il livello previsto di colorazione dei vetrini inviati dai partecipanti.

I valutatori esaminano ciascun campione, cercando la presenza dei modelli di colorazione della membrana cellulare previsti.

I valutatori contrassegneranno o giudicheranno inadeguata la colorazione di un partecipante per i seguenti motivi:

Campioni UK NEQAS: colorazione della membrana insufficiente o eccessiva; colorazione falsa positiva/negativa della membrana.

UK NEQAS e campioni interni: eccessiva colorazione citoplasmatica/di fondo; colorazione ematosilina eccessiva/insufficiente; danno morfologico; scarsa qualità del tessuto di controllo interno, scelta scarsa/inadeguata del tessuto di controllo, fissazione scarsa/inadeguata del materiale interno

| UK NEQAS Cell Line | Colorazione prevista | Descrittivo |
|--------------------|----------------------|--|
| A: SK-BR-3 | 3+ | Le cellule mostrano una forte colorazione completa della membrana. |
| B: MDA-MB-453 | 2+ | Colorazione completa della membrana nella maggior parte delle cellule, di intensità da debole a moderata |
| C: MDA-MB-175 | 1+ | Le cellule mostrano solo una colorazione membranosa parziale |
| D: MDA-MB-231 | 0 | Le cellule non sono colorate |

Table 4. Schemi di colorazione attesi delle linee cellulari UK NEQAS.

'U' Scores: i valutatori possono anche assegnare un punteggio "U", che indica che la colorazione è "non interpretabile".

Una volta che la colorazione della membrana è stata interpretata per ciascuno dei campioni UK NEQAS, i valutatori forniscono quindi un punteggio complessivo di "5", basato sull'interpretabilità della colorazione della membrana e sulla qualità tecnica. I quattro punteggi del valutatore vengono quindi combinati per dare un possibile punteggio su "20" punti:

| Punteggio Finale | Interpretazione |
|------------------|---|
| 0 | Nessuna sottomissione. |
| 4 - 8 | INACCETTABILE Deve essere apportata una qualità inadatta per l'interpretazione clinica e miglioramenti tecnici. I punti potrebbero essere stati detratti a causa di: <ul style="list-style-type: none"> • Più debole/più forte del livello previsto di colorazione della membrana; • Colorazione falsa positiva/negativa della membrana; • Eccessiva colorazione citoplasmatica; • Eccessivo danno morfologico; • Eccessiva colorazione delle ghiandole normali. |
| 12 | APPENA ACCETTABILE Nel complesso, i campioni sono interpretabili al limite. Indicando che, pur essendo ancora clinicamente rilevanti, devono essere apportati miglioramenti tecnici. I punti potrebbero essere stati detratti a causa di: <ul style="list-style-type: none"> • Colorazione della membrana più debole/più forte del previsto; • Qualche colorazione citoplasmatica; • Danno morfologico |
| 13 - 15 | ACCETTABILE Alcuni lievi problemi tecnici rilevati da alcuni dei valutatori, ma nel complesso la colorazione è adatta per l'interpretazione. |
| 16 - 20 | BUONO O ECCELLENTE Tutti i valutatori concordano sul fatto che, nel complesso, per i campioni distribuiti, la colorazione è al livello previsto per ciascuno dei campioni distribuiti. |

Tabella 5. Interpretazione del punteggio finale, prodotto dai punteggi combinati dei quattro valutatori.

GUIDA ALLA VALUTAZIONE GASTRIC HER2 IHC

UK NEQAS ICC & ISH utilizza uno specifico criterio di valutazione della VEQ quando assegna un punteggio alle sezioni di tessuto, in modo da fornire ai partecipanti un feedback tecnico aggiuntivo (vedere Tabella 6).

- Il sistema di punteggio Gastrico HER2 si basa sulle linee guida originali stabilite da Hoffman e Ruschcoff per le resezioni chirurgiche. Le linee guida aggiornate (Bartley et al. 2017) non hanno apportato modifiche alla valutazione di HER2 nel carcinoma gastrico.
- Prima della spedizione, ea causa dell'eterogeneità del tessuto gastrico, le sezioni di riferimento vengono preparate e colorate approssimativamente ogni 25-28 sezioni seriali utilizzando i kit commerciali attualmente disponibili. I campioni sono ulteriormente convalidati da ISH.
- I vetrini Gastric HER2 distribuiti da UK NEQAS includono campioni di carcinoma gastrico inclusi in paraffina e fissati in formalina con una gamma variabile di livelli di espressione della proteina HER2. I campioni non includono necessariamente sempre (e non necessariamente vengono eseguiti nell'ordine di) un 3+, 2+, 1+ e 0 a ogni ciclo di valutazione.
- Durante la valutazione, i campioni vengono valutati in modo indipendente attorno a un microscopio multi-header, con ciascuno dei 4 valutatori che fornisce la propria interpretazione sulla colorazione della membrana.

| COLORAZIONE E PREVISTA | Criteri DI VALUTAZIONE |
|------------------------|--|
| 3+ | <ul style="list-style-type: none"> • 3+: colorazione prevista • 3+/2+: è presente una colorazione 3+ della membrana ma mostra anche una colorazione 2+ . |
| 2+ | <ul style="list-style-type: none"> • 2+: colorazione prevista • 2+/1+: è presente una colorazione 2+ della membrana ma mostra anche una colorazione 1+ . • 2+/3+: è presente una colorazione 2+ della membrana ma mostra anche una colorazione 3+ . |
| 1+ | <ul style="list-style-type: none"> • 1+: colorazione prevista • 1+/0: la colorazione è più vicina all'estremità più debole della colorazione 1+ ma comunque accettabile. |
| 0 | <ul style="list-style-type: none"> • 0: colorazione prevista • 0/1+: le cellule iniziano a mostrare una colorazione della membrana molto debole. |

Table 6. Schemi di colorazione attesi dei campioni di controllo gastrico

'U' Scores: i valutatori possono anche assegnare un punteggio di "U", indicando che il campione non è interpretabile e sono necessari miglioramenti sostanziali. Qualsiasi punteggio della membrana al di fuori dell'intervallo per ciascuno dei punteggi attesi come indicato nella Tabella 6 è considerato inaccettabile. Quando l'interpretazione della membrana per ciascuno dei campioni è completa, viene assegnato un punteggio individuale su 5, basato sull'interpretabilità della colorazione della membrana e sul feedback tecnico. Un punteggio complessivo viene assegnato combinando i punteggi dei quattro valutatori per ottenere un punteggio di 20 (Tabella 7).

| Punteggio Finale | Interpretazione |
|------------------|---|
| 0 | Nessuna sottomissione. |
| 4 - 8 | INACCETTABILE Deve essere apportata una qualità inadatta per l'interpretazione clinica e miglioramenti tecnici. I punti potrebbero essere stati detratti a causa di: <ul style="list-style-type: none"> • Più debole/più forte del livello previsto di colorazione della membrana; • Colorazione falsa positiva/negativa della membrana; • Eccessiva colorazione citoplasmatica; • Eccessivo danno morfologico; • Eccessiva colorazione delle ghiandole normali. |
| 12 | APPENA ACCETTABILE Nel complesso, i campioni sono interpretabili al limite. Indicando che, pur essendo ancora clinicamente rilevanti, devono essere apportati miglioramenti tecnici. I punti potrebbero essere stati detratti a causa di: <ul style="list-style-type: none"> • Colorazione della membrana più debole/più forte del previsto; • Qualche colorazione citoplasmatica; • Danno morfologico |
| 13 - 15 | ACCETTABILE Alcuni lievi problemi tecnici rilevati da alcuni dei valutatori, ma nel complesso la colorazione è adatta per l'interpretazione. |
| 16 - 20 | BUONO O ECCELLENTE Tutti i valutatori concordano sul fatto che, nel complesso, per i campioni distribuiti, la colorazione è al livello previsto per ciascuno dei campioni distribuiti. |

Table 7. Interpretazione del punteggio finale, prodotto dai punteggi combinati dei quattro valutatori.

GUIDA ALLA VALUTAZIONE NSCLC ALK IHC

Il materiale distribuito dal UK NEQAS può contenere fino a sei campioni in una determinata sessione di valutazione. Di solito includerà una miscela di linee cellulari, campioni di tessuto di carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) di espressione nota di ALK IHC e appendice. Le sezioni di riferimento vengono preparate colorando ogni 25°-28° sezione di taglio utilizzando il test Ventana ALK D5F3 companion diagnostic (CDx). Ciò fornisce un punto di riferimento per valutare il livello previsto di colorazione dei vetrini inviati dai partecipanti.

Le valutazioni sono effettuate da quattro valutatori che assegnano un punteggio indipendente. Ciascuno valuta i campioni distribuiti UK NEQAS e fornisce un'interpretazione sull'intensità della colorazione (punteggio come 3+, 2+, 1+ o 0).

Punteggi "U"/non interpretabili: i valutatori possono anche assegnare un punteggio "U", che indica che le linee cellulari / le sezioni di tessuto sono "non interpretabili".

I valutatori forniranno quindi anche un punteggio complessivo su "5" con i voti dei quattro valutatori sommati per dare un possibile punteggio su 20 come mostrato nelle Tabelle 6 e 7 sopra (stessi criteri utilizzati per il Modulo Gastrico HER2).

GUIDA ALLA VALUTAZIONE NSCLC PD-L1 IHC (PILOT)

Il materiale distribuito dal UK NEQAS può contenere fino a otto campioni in un determinato ciclo di valutazione. Di solito include una miscela di linee cellulari, campioni di tessuto NSCLC con espressione IHC nota di PD-L1 e tessuto tonsillare. Le sezioni di riferimento vengono preparate colorando sezioni ogni 25°-28° taglio utilizzando i dosaggi Ventana/Roche e Dako/Agilent PD-L1 NSCLC IHC. Ciò fornisce un punto di riferimento per valutare il livello previsto di colorazione dei vetrini inviati dai partecipanti.

Le valutazioni vengono effettuate da valutatori che ottengono un punteggio indipendente su "5" e quindi sulla media

dei quattro voti dei valutatori sono forniti come punteggio totale su 20. Ciascuno valuta i campioni distribuiti da UK NEQAS e fornisce un'interpretazione. La sezione delle tonsille viene classificata come Accettabile o Inaccettabile e le linee cellulari e i campioni di tumore polmonare vengono interpretati in base alla percentuale di colorazione delle cellule tumorali come 0 o <1% (negativo), 1-4%, 5-9%, 10-24 %, 25-49%, 50-79% e 80-100%.

Punteggi "U"/non interpretabili: i valutatori possono anche assegnare un punteggio "U" che indica che le linee cellulari/sezioni di tessuto sono "non interpretabili"

GUIDA ALLA VALUTAZIONE INTERPRETATIVA PER BREAST HER2 ISH

Ad ogni valutazione, ai laboratori vengono inviati campioni trattati con FFPE di stato noto di HER2 ISH. I partecipanti devono valutare i materiali per l'amplificazione del gene HER2 in conformità con le attuali linee guida HER2 ISH utilizzando:

- un test a doppia sonda (HER2/Cep17: metodo del rapporto) OPPURE
- un test a sonda singola (copia HER2).

I partecipanti sono tenuti a completare e restituire i punteggi per ciascun campione utilizzando il sistema di inserimento dati online. Sono inoltre invitati a inserire i propri dati metodologici per fornire brevi dettagli sulla sonda e sul metodo che hanno impiegato.

In questo modulo, ad ogni valutazione verrà inviato un pannello diverso di campioni di cancro al seno per garantire la copertura degli intervalli diagnostici critici.

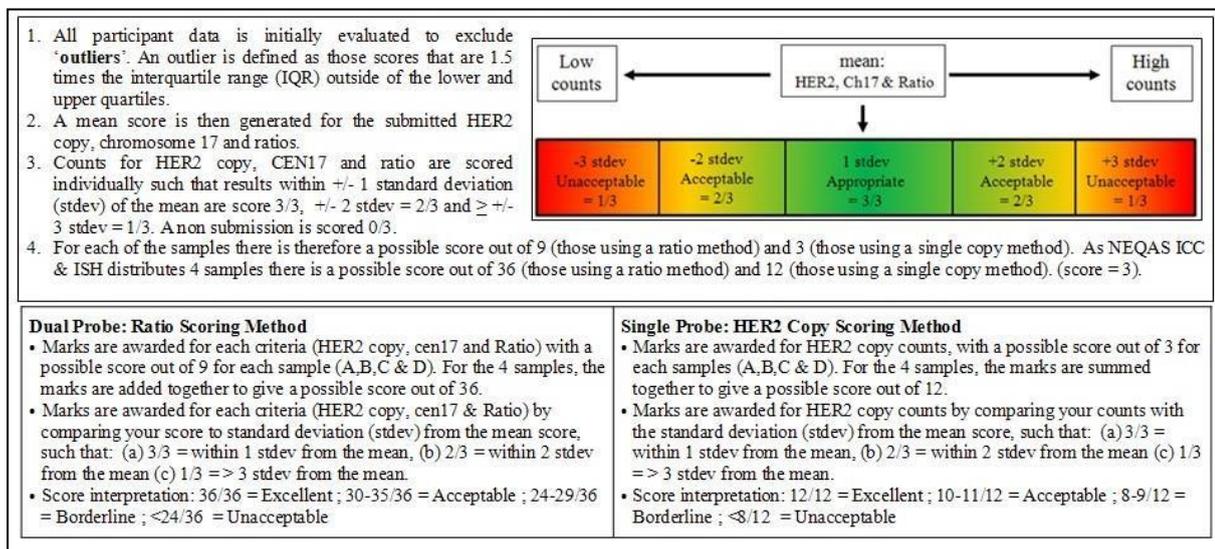


Figure 2. Approccio statistico utilizzato nel sistema di punteggio interpretativo ISH.

La valutazione dei vetrini utilizza un metodo statistico per fornire informazioni concise in merito alla variabilità inter-osservatore nell'enumerazione della copia HER2, del cromosoma 17 e dei rapporti complessivi (vedere la Figura 2 sopra).

| Dual Probe | | Single Probe | |
|------------|------------------------|--------------|------------------------|
| Score | Performance Descriptor | Score | Performance Descriptor |
| 36/36 | Excellent | 12/12 | Excellent |
| 30-35/36 | Acceptable | 10-11/12 | Acceptable |
| 24-29/36 | Borderline | 8-9/12 | Borderline |
| <24/36 | Unacceptable | <8/12 | Unacceptable |

Table 8. Interpretazione del punteggio finale

GUIDA ALLA VALUTAZIONE TECNICA PER BREAST HER2 ISH

I vetrini di ibridazione cromogenica in situ (CISH) vengono valutati tecnicamente attorno a un microscopio multi-header e ogni vetrino viene valutato da quattro valutatori indipendenti. Ogni valutatore fornisce un punteggio su "5", quindi i punteggi vengono sommati per dare un punteggio finale su 20.

I vetrini di ibridazione fluorescente in situ (FISH) vengono valutati tecnicamente da un team di valutatori contemporaneamente, incorporando un video in diretta dal microscopio a fluorescenza con l'immagine visualizzata su un grande monitor ad alta definizione, consentendo fino a otto valutatori per visualizzare e valutare contemporaneamente i vetrini FISH, quindi il consenso dei voti dei valutatori viene fornito come punteggio totale su 20.

I valutatori esaminano la qualità della colorazione ISH ma NON eseguono l'enumerazione della sonda. Questo viene valutato durante la valutazione interpretativa HER2 ISH. La procedura di punteggio della valutazione tecnica e i criteri di interpretazione sono mostrati nelle linee guida fornite nella Tabella 9

| PUNTEGGIO DEL SINGOLO VALUTATORE (vedi nota 1) | Punteggio Totale (vedi nota 2) | INTERPRETAZIONE DEL PUNTEGGIO |
|--|--------------------------------|---|
| 0 | 0 | NESSUNA SOTTOMISSIONE |
| 1 e 2 | 4 - 8 | INACCETTABILE I campioni UK NEQAS distribuiti e/o interni non sono interpretabili. Caratteristiche potenziali: <ul style="list-style-type: none"> • Colorazione nucleare eccessiva o molto debole/assente (DAPI); • Scarsa ibridazione della sonda; • Segnali HER2 o CEP17 mancanti, con conseguente valutazione errata del numero di copie; • Eccessiva colorazione di fondo. |
| 3 | 12 | APPENA ACCETTABILE I campioni UK NEQAS distribuiti e/o interni sono interpretabili, ma è necessario apportare sostanziali miglioramenti nella qualità della colorazione. Caratteristiche potenziali: <ul style="list-style-type: none"> • Debole controcolorazione nucleare; • Segnali HER2 e/o CEP17 deboli; • Colorazione di fondo. |

| | | |
|-------|---------|---|
| 3 e 4 | 13 - 15 | ACCETTABILE I campioni UK NEQAS distribuiti e/o interni mostrano un buon standard di colorazione e sono adatti per l'interpretazione. Sono presenti difetti minori non critici. |
| 4 e 5 | 16 - 20 | BUONO O ECCELLENTE I campioni UK NEQAS distribuiti e/o interni mostrano un ottimo standard di colorazione e sono ottimali per l'interpretazione. |

Table 9. Punteggi di valutazione individuali e combinati e loro interpretazione.

Nota 1: singoli valutatori sono applicabili solo alla valutazione CISH, in cui ciascun valutatore assegna un punteggio compreso tra 0 e

Nota 2: i punteggi di valutazione combinati sono prodotti per entrambe le valutazioni CISH e FISH, con un intervallo compreso tra 0 e 20.

RISOLUZIONE DEI PROBLEMI DI RISULTATO DEI MODULI INTERPRETATIVO E TECNICO

La combinazione dei risultati dei moduli HER2 ISH "Interpretativo" e "Tecnico" consente ai laboratori di risolvere ulteriormente i problemi delle loro tecniche, come mostrato nella Tabella 10 nella pagina successiva

| Risultato Valutazione Tecnica | Risultato Valutazione Interpretativa | Interpretazione e azioni raccomandate |
|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| Accettabile | Appropriato o Accettabile | I campioni distribuiti da UK NEQAS mostrano un buon standard di colorazione e sono stati interpretati correttamente. Nessuna azione correttiva richiesta |
| Accettabile | Inaccettabile | I campioni distribuiti da UK NEQAS mostrano un buon standard di colorazione MA c'è un problema con l'interpretazione, ad esempio, il numero di copie di HER2 e/o CEP17 valutato in modo errato Si raccomanda di rivedere i criteri di punteggio/conteggio. |
| Inaccettabile | Appropriato o Accettabile | La qualità della colorazione tecnica dei campioni distribuiti dal UK NEQAS è scadente e quindi non adatta all'interpretazione. Sebbene l'interpretazione di questi campioni da parte del partecipante sia corretta, la loro qualità di colorazione se presente nei casi clinici può portare a interpretazioni errate. Si raccomanda che il metodo tecnico sia ottimizzato (o che venga utilizzato un kit/dosaggio standardizzato secondo le istruzioni del produttore). |
| Inaccettabile | Inaccettabile | Nel complesso, i campioni NEQAS non sono accettabili per la colorazione tecnica e l'interpretazione. È molto probabile che la segnalazione di tali casi porti a un'errata interpretazione dei casi clinici. In caso di sottoperformance persistente: <ul style="list-style-type: none"> • Richiedere assistenza al produttore del kit/dosaggio. • Chiedere assistenza al NEQAS del Regno Unito o ai colleghi. • Riconvalidare il protocollo (retrospettivamente e prospettivamente). • Rivedere i criteri di punteggio. • Prendere in considerazione l'invio di casi clinici a un centro di riferimento per verificare i risultati interni. |

Tabella 10. Linee guida alla risoluzione dei problemi

4. REQUISITI E RACCOMANDAZIONI DEL TESSUTO DI CONTROLLO INTERNO

I campioni interni devono essere posizionati su vetrini distribuiti da UK NEQAS come mostrato nella Sezione 3 di questo manuale. Devono essere utilizzati controlli appropriati come indicato nella sezione pertinente di seguito.

La qualità del tessuto interno presentato è importante. I tessuti devono essere ben fissati e lavorati con una morfologia ben conservata. Nella valutazione della qualità verranno presi in considerazione la scarsa fissazione, i danni causati dall'eccessivo recupero dell'antigene e una controcolorazione inappropriatamente debole o forte. Così come la scarsa qualità delle sezioni e l'uso di sezioni eccessivamente spesse o sottili.

Le schede dati online DEVONO essere interamente compilate, indicando il tipo di tessuto/tumore e, se del caso, quale componente è stato utilizzato per controllare la colorazione (ad esempio, nel modulo mammario se deve essere valutato il carcinoma in situ piuttosto che l'invasivo componente).

NON richiediamo l'invio di controlli interni non colorati per nessuno dei nostri moduli.

MATERIALE DI CONTROLLO INTERNO NECESSARIO

Per tutti i moduli, il tessuto interno deve includere controlli appropriati per l'antigene richiesto. Verranno sottratti punti per controlli inappropriati.

| Modulo | Controllo(i) interno(i) idoneo(i) |
|---------------------------------------|---|
| Alimentary Tract (GIST) | GIST e appendice o GIST con mucosa normale inclusa. |
| Mismatch Repair Proteins | Tumore che mostra perdita di espressione (carente) e appendice o tumore che mostra perdita di espressione (carente) insieme all'epitelio normale |
| Lymphoid Pathology | Linfoma appropriato all'antigene valutato e tonsille. |
| NSCLC ALK IHC | Sono richiesti NSCLC ALK-positivo e ALK-negativo e appendice. |
| NSCLC PD-L1 IHC (Pilot): | NSCLC PD-L1-positivo e PD-L1-negativo insieme a tonsille. |
| Breast HER2 ISH | Un singolo campione costituito da un tumore mammario invasivo. |
| Breast Hormonal Receptors (ER and PR) | Il tessuto di controllo interno dei partecipanti DEVE essere costituito da tessuto mammario composito (vedere anche Nota 1 sull'uso di linee cellulari): <ul style="list-style-type: none"> • >80% tumore positivo ad alta intensità (punteggio Allred/Quick 7-8) • 30-70% tumore positivo con intensità bassa o moderata (punteggio Allred/Quick 4-6) • tumore negativo, idealmente comprese le ghiandole normali (punteggio Allred/Quick 0) |
| Breast HER2 IHC | Il materiale di controllo interno DEVE includere campioni di casi di carcinoma mammario invasivo con espressione di HER2 3+, 2+ e 1+/0 (vedere Nota 1 sull'uso di linee cellulari). Il tessuto mammario DCIS che mostra diversi livelli di colorazione della membrana è un'alternativa accettabile. Tuttavia, i laboratori devono indicare quale componente hanno valutato, altrimenti verrà valutata la componente invasiva, se presente. È anche accettabile inviare un controllo tumorale interno eterogeneo con aree di espressione di membrana, ad esempio, 3+ e 2+, a condizione che il partecipante indichi le aree e i livelli previsti di colorazione. |
| Gastric HER2IHC | Il materiale di controllo interno DEVE includere casi che esprimono HER2 3+, 2+ e 1+/0 preferibilmente di tumore gastrico, sebbene sia accettabile anche il tumore mammario (vedere anche Nota 1 sull'uso di linee cellulari). Il tessuto mammario DCIS che mostra diversi livelli di colorazione della membrana è un |

| | |
|--|---|
| | alternativa accettabile. I laboratori devono indicare sulla scheda tecnica quale componente del tumore hanno valutato, altrimenti verrà valutata la componente invasiva, se presente. È anche accettabile inviare un controllo tumorale interno eterogeneo con aree di espressione di membrana, ad esempio, 3+ e 2+, purché il partecipante indichi le aree e i livelli previsti di colorazione. |
| ALK FISH (Pilot): | NSCLC ALK-positivo e ALK-negativo |
| ROS1 FISH (Pilot): | NSCLC ROS-1-positivo e ROS-1 -negativo |
| PD-L1 in TNBC (Pilot) | Tonsilla insieme a un campione di TNBC positivo e uno negativo |
| Ki-67 in Breast Cancer (Pilot) | Tonsille insieme a un cancro al seno che mostra una bassa proliferazione (5% o meno) e uno che mostra un'alta proliferazione (20% o più) |
| p16 in Head & Neck (Pilot) | Una tonsilla insieme a un carcinoma della testa e del collo che non mostra alcuna colorazione per p16 e una che mostra un'elevata espressione di p16 |
| High-risk HPV in Head and Neck (Pilot) | Una tonsilla insieme a un carcinoma della testa e del collo che non mostra alcuna colorazione per HPV ad alto rischio e una che mostra espressione di HPV ad alto rischio. |

Table 11. Controlli In-House

NOTA IMPORTANTE: le linee cellulari sono un sostituto accettabile, ma solo se utilizzate insieme a un pezzo di tessuto interno del partecipante. È ancora un requisito includere i diversi livelli di espressione richiesti, siano essi mostrati dalle linee cellulari o da una miscela di linee cellulari e tessuti. Le linee cellulari incluse con kit/saggi commerciali sono un sostituto accettabile, ma anche in questo caso deve essere incluso anche un pezzo di tessuto interno del partecipante.

5. REPORT

Al termine di ogni valutazione, ai partecipanti viene inviata una notifica via e-mail che i rapporti sono disponibili per la visualizzazione e il download dal sito Web UK NEQAS ICC & ISH.

I partecipanti hanno anche accesso a grafici, tabelle tecniche che mostrano gli anticorpi utilizzati, i sistemi di automazione e i metodi di recupero, insieme a immagini che mostrano esempi di colorazione ottimali e scadenti. Inoltre, i "metodi migliori" vengono generati anche dai dati tecnici dei partecipanti resi anonimi.

REPORT INDIVIDUALE

Tutti i Report individuali sono costituiti da:

- I punteggi dei singoli valutatori su 5 e il punteggio totale su 20;
- Feedback del valutatore quando appropriato.
- Un pannello grafico di benchmarking che mostra i risultati per il partecipante nel corso di 10 valutazioni rispetto alla media del gruppo.

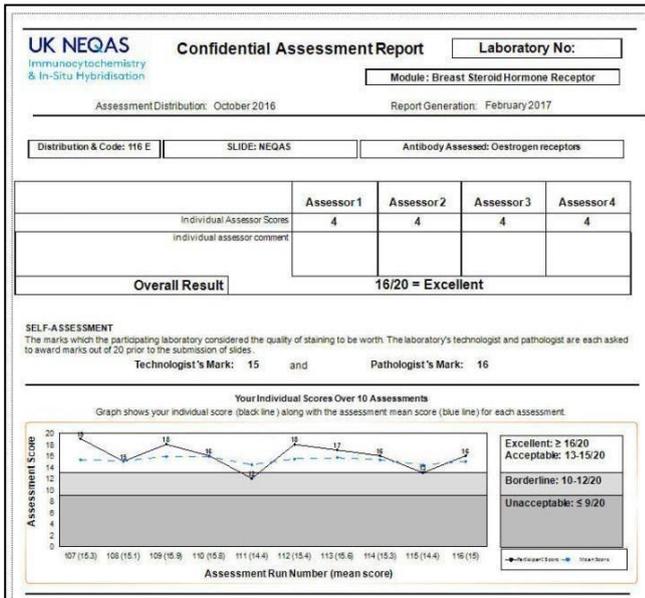


Figure 3. Esempio di Report dal modulo del recettore ormonale del seno.

Nota: il rapporto mostrato è tratto da un'esecuzione di valutazione prima dell'implementazione del punteggio di consenso per "2"/"3", e quindi il limite è mostrato come 10-12/20 e Inaccettabile come ≤9/20.

GRAFICI

Vengono forniti grafici che mostrano la distribuzione dei tassi di superamento per una particolare analisi sia sul UK NEQAS ICC che sui campioni interni. Ciò consente ai singoli partecipanti di valutare le proprie prestazioni rispetto al resto dei partecipanti. Di seguito è mostrato un esempio.

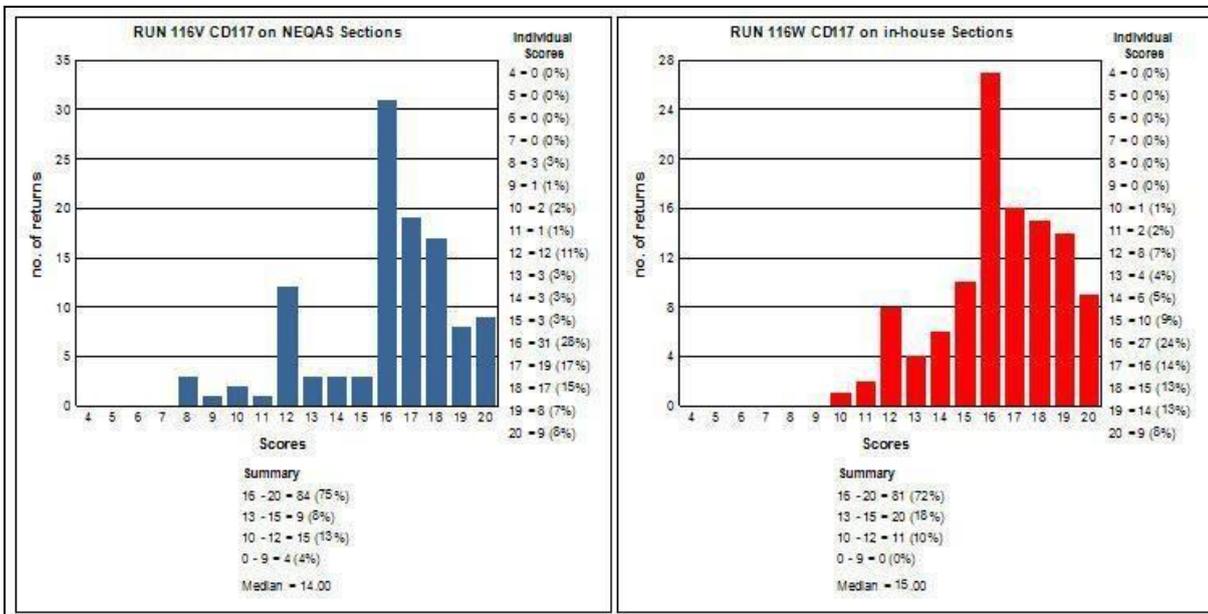


Figure 4. Esempio dei report grafici del modulo Tratto Alimentare.

Nota: i grafici raffigurati sono tratti da un'esecuzione di valutazione prima dell'implementazione del punteggio di consenso per "2"/"3", e quindi mostrano punteggi di 9, 10 e 11 e categorie di 0-9 e 10-12.

DATI TECNICI

Vengono inoltre fornite tabelle tecniche, che mostrano la scelta degli anticorpi da parte dei partecipanti, i sistemi di automazione e i metodi di recupero. I dati mostrano il numero di partecipanti che utilizzano un particolare metodo (N) insieme alla percentuale (%) che ha raggiunto un punteggio accettabile utilizzando i parametri selezionati (punteggio≥12/20 nel caso della maggior parte dei moduli).

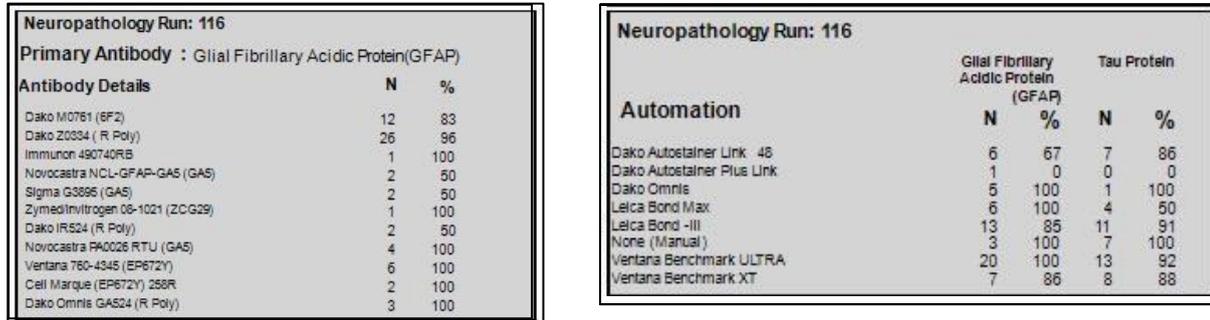
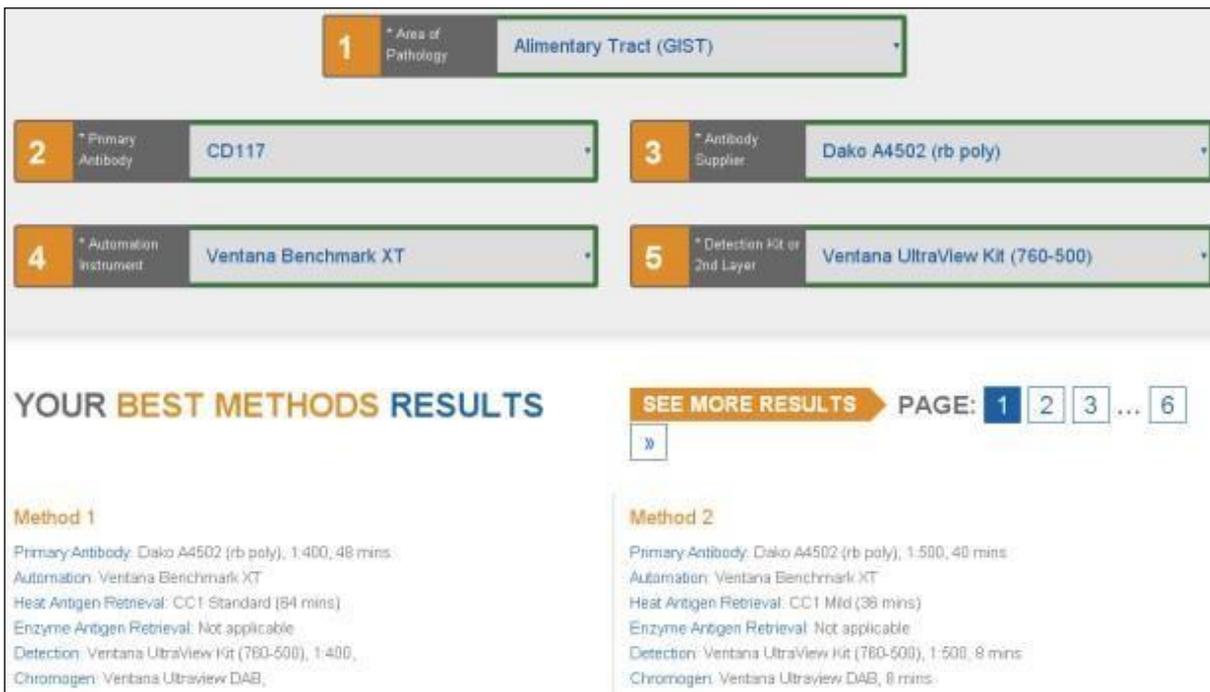


Figura 5. Esempio dei referti tecnici del modulo Neuropatologia

MIGLIORI METODI SELEZIONATI

I metodi migliori vengono selezionati tra una varietà dei metodi più popolari tra i partecipanti che hanno ottenuto buoni punteggi nelle valutazioni sia del UK NEQAS che delle diapositive interne.

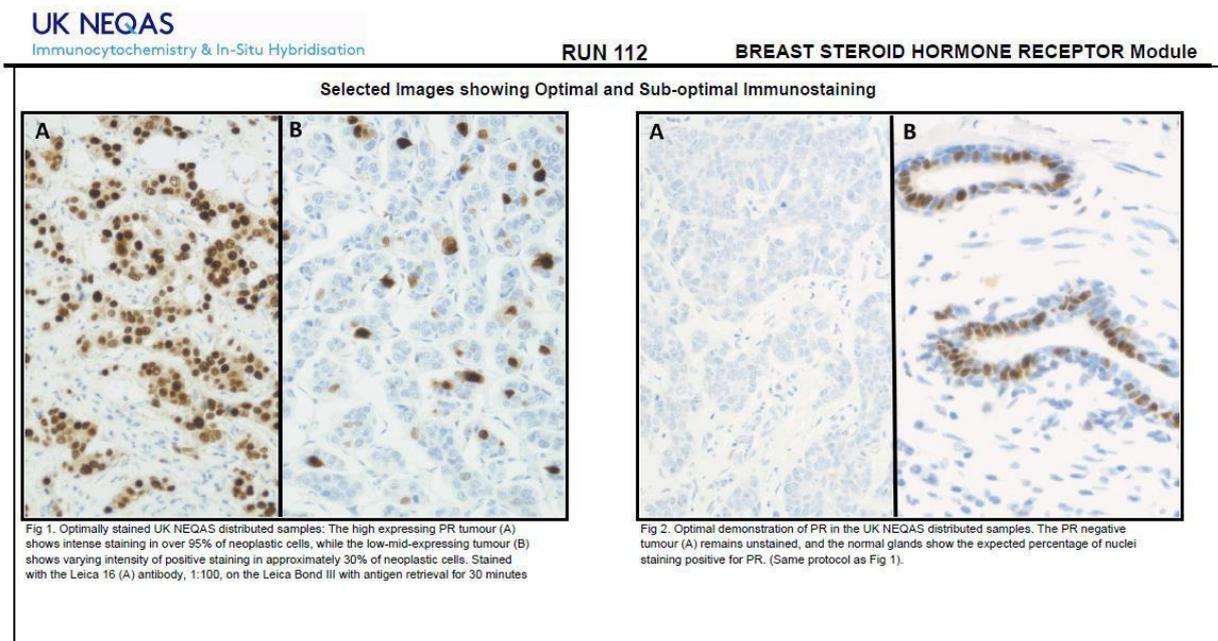
Figura 6. Esempio tratto dal modulo Tratto Alimentare (GIST)..



I "metodi migliori" basati sul Web sono disponibili attraverso il nostro database dei migliori metodi di immunocistochemica (www.ukneqasiccish.org/best-methods/), che contiene una raccolta di diverse migliaia di metodologie rese anonime raccolte dai metodi inviati dai partecipanti a UK NEQAS ICC & ISH che sono associati a eccellenti risultati di colorazione.

ESEMPI FOTOGRAFICI: COLORAZIONE ACCETTABILE E INACCETTABILE

Figure 7. Esempio di immagine dal modulo Breast Hormone.



Le immagini vengono scattate dopo ogni valutazione che illustra il livello di colorazione accettabile e inaccettabile, consentendo ai partecipanti di effettuare un confronto diretto con le proprie diapositive di valutazione presentate

6. MONITORAGGIO DELLE PRESTAZIONI SCARSE (SOLO PER I LABORATORI UK)

Tutti gli schemi UK NEQAS sono tenuti dal loro ente di accreditamento, UKAS (ISO/IEC 17043:2010), a disporre di un sistema formale in base al quale vengono monitorate le prestazioni dei loro partecipanti di laboratorio clinico nel Regno Unito. UK NEQAS ICC & ISH è tenuto a notificare all'appropriato Royal College of Pathologist National Quality Assurance Advisory Panel (RCPATH NQAAP) tutti i casi di prestazioni inferiori agli standard persistenti dei laboratori clinici del Regno Unito partecipanti. Il gruppo di lavoro congiunto per l'assicurazione della qualità, che è l'organismo RCPATH con la responsabilità generale dell'assicurazione della qualità clinica, ha istituito un sistema a "semaforo" per la classificazione delle prestazioni dei partecipanti ai laboratori clinici del Regno Unito.

| Colour Code | Descriptor |
|-------------|--|
| GREEN | Il partecipante non ha problemi con prestazioni scadenti. |
| AMBER | Problemi con prestazioni scadenti, gestiti localmente tra il Programma e il partecipante. |
| RED | I problemi di prestazioni scadenti rimangono irrisolti; il partecipante è designato come persistente scarso rendimento e riferito a NQAAP. |

Tavola 12. Sistema a semaforo utilizzato per valutare le prestazioni non ottimali.

Il monitoraggio delle scarse prestazioni UK NEQAS ICC & ISH copre le cinque esecuzioni più recenti dopo il caricamento dei rapporti dopo ogni valutazione.

Ogni Modulo è trattato come un'entità separata; i punteggi bassi di un modulo non sono combinati con punteggi bassi da un altro per produrre una prestazione scadente.

7. SCARSE PRESTAZIONI DEI PARTECIPANTI FUORI DAL REGNO UNITO

UK NEQAS ICC & ISH non ha il mandato di segnalare le scarse prestazioni dei partecipanti non residenti nel Regno Unito. Ma per servire questi partecipanti nel miglior modo possibile, lo Schema li contatterà per offrire aiuto e assistenza su base volontaria.

8. CERTIFICATO DI PARTECIPAZIONE

Alla fine di ogni anno VEQ, il Programma fornisce a tutti i partecipanti un "certificato di partecipazione" stampato, che elenca tutti i moduli a cui hanno partecipato. Per ogni modulo, i laboratori devono aver inviato almeno due volte durante l'anno VEQ. I partecipanti ricevono anche un riepilogo dei risultati raggiunti nell'anno precedente (rapporto annuale).

9. MEETINGS E WORKSHOPS PRATICI

Durante tutto l'anno vengono organizzati incontri con partecipanti e scientifici e workshop pratici, i cui dettagli vengono distribuiti a tutti gli abbonati NEQAS ICC e ISH del Regno Unito.

Questi incontri offrono ai partecipanti l'opportunità di discutere le tecniche e le applicazioni ICC e ISH e le questioni relative all'EQA con i valutatori dello Schema e il personale NEQAS ICC e ISH del Regno Unito

10. SCOPO DELLO SCHEMA

Per un elenco completo degli antigeni (esaminati mediante ICC) e dei geni (esaminati mediante ISH) che possono essere valutati da UK NEQAS ICC & ISH (il suo campo di applicazione), fare riferimento al sito Web dell'ente di accreditamento dello Schema si veda :

https://www.ukas.com/wp-content/uploads/schedule_uploads/00013/7833Proficiency-Testing-Multiple.pdf

11. I MODULI DEL PIANO

I laboratori sono invitati a partecipare a qualsiasi modulo, a seconda dei loro impegni di servizio e delle aree di interesse specialistiche. Tutti i moduli offrono quattro sessioni di valutazione all'anno. I partecipanti vengono valutati sia sui materiali distribuiti da UK NEQAS che sui controlli interni dei partecipanti.

È prevista la partecipazione a tutte le sessioni di valutazione durante l'anno EQA.

Lo Schema farà tutto il possibile per garantire che, ove specificato, i contrassegni richiesti e stipulati siano valutati come indicato, ma si riserva il diritto di modificarli con alternative idonee laddove le circostanze lo richiedano.

12. MODULO 1: GENERAL PATHOLOGY

Gli antigeni saranno scelti dall'ambito disponibile. Per trovare l'elenco più aggiornato:

https://www.ukas.com/wp-content/uploads/schedule_uploads/00013/7833Proficiency-Testing-Multiple.pdf

13. MODULO 2: BREAST PATHOLOGY HORMONAL RECEPTORS (ER AND PR)

- Oestrogen Receptor (ER)
- Progesterone Receptor (PR)

14. MODULO 3: BREAST PATHOLOGY HER2 IHC

Le linee cellulari fissate in formalina e trattate con paraffina che mostrano l'intera gamma di espressione IHC di HER2 (3+, 2+, 1+ e 0) sono generalmente utilizzate come campioni di valutazione UK NEQAS.

15. MODULO 4: LYMPHOID PATHOLOGY

Gli antigeni saranno scelti dall'ambito disponibile. Per trovare l'elenco più aggiornato:

https://www.ukas.com/wp-content/uploads/schedule_uploads/00013/7833Proficiency-Testing-Multiple.pdf

16. MODULO 5: NEUROPATHOLOGY

Gli antigeni saranno scelti dall'ambito disponibile. Per trovare l'elenco più aggiornato:

https://www.ukas.com/wp-content/uploads/schedule_uploads/00013/7833Proficiency-Testing-Multiple.pdf

17. MODULO 6: CYTOPATHOLOGY

Gli antigeni saranno scelti dall'ambito disponibile. Per trovare l'elenco più aggiornato:

https://www.ukas.com/wp-content/uploads/schedule_uploads/00013/7833Proficiency-Testing-Multiple.pdf

Le preparazioni di Cytospin o le sezioni di blocchi cellulari sono distribuite dallo Schema in base alla preferenza del partecipante indicata.

I controlli interni dei partecipanti dovrebbero preferibilmente consistere in preparazioni complementari a seconda della scelta richiesta del campione per la valutazione, ad esempio, se ci richiedi un cytospin, ci aspetteremo di vedere un controllo interno di cytospin, e allo stesso modo per le preparazioni di blocchi cellulari.

18. MODULO 7: CD 117 AND ASSOCIATED MARKERS (GIST)

L'antigene primario che sarà richiesto ad ogni corsa:

- CD117 (c-KIT)

Di seguito sono mostrati i secondi anticorpo/antigeni, uno di questi sarà richiesto a rotazione ad ogni corsa: DOG-1, Desmin, CD34, S100 e CDX2

19. MODULO 8: GASTRIC HER2 IHC

I campioni distribuiti da UK NEQAS consisteranno in tessuto di cancro gastrico fissato in formalina e incluso in paraffina da campioni di escissione che mostrano livelli variabili di espressione della proteina di membrana HER2.

20. MODULO 9: BREAST HER2 ISH (TECHNICAL AND INTERPRETIVE)

I campioni distribuiti da UK NEQAS consisteranno in campioni di tumore al seno fissati in formalina e inclusi in paraffina.

21. MODULO 10: NSCLC ALK IHC

I campioni distribuiti da UK NEQAS consisteranno in tessuto tumorale polmonare incluso in paraffina fissato in formalina da campioni di escissione e anche linee cellulari con livelli variabili di espressione di ALK IHC. I campioni UK NEQAS includeranno anche un'appendice.

22. MODULO 11: NSCLC PD-L1 (PILOT)

I campioni distribuiti da UK NEQAS consisteranno in tessuto tumorale polmonare incluso in paraffina fissato in formalina da campioni di escissione e anche linee cellulari con livelli variabili di espressione IHC di PD-L1. I campioni NEQAS includeranno anche un campione di tonsille.

23. MODULO 12: NSCLC ALK/ROS1 FISH (PILOT)

I campioni distribuiti da UK NEQAS consisteranno in linee cellulari fissate in formalina e incluse in paraffina e/o campioni di tumori polmonari di stato genetico noto.

24. MODULO 13: MIS-MATCH REPAIR PROTEINS

- MLH1 and PMS2
- MSH2 and MSH6

Le coppie di antigeni saranno richieste in corse di valutazione alternative.

25. MODULO 14: NSCLC ROS1 IHC (PILOT)

I campioni distribuiti da UK NEQAS consisteranno in linee cellulari fissate in formalina e incluse in paraffina e/o campioni di tumore polmonare di stato genetico noto e un campione di polmone normale.

26. MODULO 15: TNBC PD-L1 (PILOT)

I campioni distribuiti da UK NEQAS consisteranno in tessuto di tumore mammario triplo negativo fissato in formalina e incluso in paraffina da campioni di escissione e linee cellulari con livelli variabili di espressione IHC di PD-L1. I campioni NEQAS del Regno Unito includeranno anche un campione di tonsille.

27. MODULO 16: KI-67 IN BREAST CANCER (PILOT)

I campioni distribuiti da UK NEQAS consisteranno in tessuto di tumore al seno fissato in formalina e incluso in paraffina da campioni di escissione con livelli variabili di espressione di Ki-67 IHC. I campioni NEQAS del Regno Unito includeranno anche un pezzo di tonsilla (reattivo).

28. MODULO 17A: HEAD & NECK PATHOLOGY – P16 (PILOT)

I campioni distribuiti da UK NEQAS consisteranno in tessuti tumorali della testa e del collo fissati in formalina e inclusi in paraffina da campioni di escissione con diversi livelli di espressione di p16 IHC (solitamente negativi e di alto livello di espressione). I campioni NEQAS includeranno anche un campione di tonsille. Saranno incluse anche le linee cellulari che mostrano vari gradi di colorazione per p16 da negativo a fortemente positivo.

29. MODULO 17B: HEAD & NECK PATHOLOGY – HIGH-RISK HPV (PILOT)

I campioni distribuiti da UK NEQAS consisteranno in tessuti tumorali della testa e del collo fissati in formalina e inclusi in paraffina da campioni di escissione con livelli variabili di espressione di HPV ad alto rischio mediante ISH (inclusi negativi e fortemente positivi). I campioni NEQAS del Regno Unito includeranno anche un campione di tonsille. Saranno incluse anche le linee cellulari che mostrano vari gradi di colorazione per l'HPV ad alto rischio da negativo a fortemente positivo.

30. MODULO 18: LOW HER2 IN BREAST CANCER (PILOT)

I campioni distribuiti da UK NEQAS consisteranno in tessuti tumorali di carcinoma mammario fissati in formalina e inclusi in paraffina da campioni di escissione con livelli variabili di espressione di HER2 mediante ICC (inclusi negativi (0), 1+ e 2+).

31. UK NEQAS ICC & ISH e CODEX ITALIA SRL

UK NEQAS ICC & ISH, 5 Coldbath Square, London EC1R 5HL United Kingdom

Telephone: (+44) (0)208 187 9174. Email: info@ukneqasiccish.org

CODEX SRL, VIA VESPUCCI 12, 16156 GENOVA

TEL. 0106671491

E-MAIL: INFO@CODEXITALIA.IT

32. UK NEQAS ICC & ISH ASSESSORS

Le valutazioni UK NEQAS ICC e ISH sono uno sforzo di squadra, i nostri valutatori sono una parte fondamentale di quel team.

Facciamo molto affidamento sul loro aiuto e consiglio di esperti e siamo molto grati a loro

L'elenco mostra i nomi e le posizioni dei nostri attuali valutatori (corretti al momento della pubblicazione di questo manuale).

United Kingdom

Mr C Abbott, Bristol
 Mr D Allen, London
 Ms S Anderson, London
 Dr M Arends, Edinburgh
 Dr M Ashton-Key, Southampton
 Mr F Berisha, UK NEQAS
 Ms Y Bissett, Glasgow
 Dr C Cardozo, Lancashire
 Dr A Cramer, Manchester
 Mr A Dodson, UK NEQAS
 Ms M Domingo-Arada, London
 Mrs G Donald, Maidstone
 Ms D Emery, Preston
 Dr L Farmkiss, Portsmouth
 Mr R Fincham, Cambridge
 Mr D Fish, Southampton
 Mrs S Forrest, Liverpool
 Mr S Forrest, Liverpool
 Dr I Frayling, Cardiff
 Mr J Gabriel, London
 Dr C Gillett, London
 Mrs L Govan, Lanarkshire
 Dr A Haragan, Liverpool
 Prof R Hunt, Stockport
 DR D Jacob, Preston
 Mrs K Insole, London
 Ms M James, UK NEQAS
 Ms B Jephwa, Nottingham
 Dr N Johnson, Cambridge
 Ms S Jordan, London
 Dr J Joseph, Preston
 Mrs L Kane, Glasgow
 Ms K Kennedy, Belfast
 Dr T Khan, Kettering
 Dr G King, Aberdeen
 Mr J Linares, London
 Ms A Long, Newcastle

Mrs J MacMillan, Glasgow
 Mr Colin Marsh, Newcastle
 Dr B Mahler-Araujo, Cambridge
 Dr A Merve, London
 Dr A Miremadi, Cambridge
 Ms D Nayar, UK NEQAS
 Ms A Newman, Brighton
 Dr G Orchard, London
 Dr D Pandit, Lancashire
 Ms S Parry, UK NEQAS
 Ms A Patterson, Belfast
 Prof S Pinder, London
 Dr M Pitt, Preston
 Mrs J Pritchard, Birmingham
 Dr E Provenzano, Cambridge
 Dr A Riley, Stirling
 Mr G Rock, Birmingham
 Ms P Singh, Bristol
 Mrs L Skaetes, Cambridge
 Dr J Starczynski, Birmingham
 Dr P Taniere, Birmingham
 Mrs C Thomas, Preston
 Ms G Valentine, London
 Mr P Wells-Jordan, Leicester
 Dr P Wencyk, Nottingham
 Mrs H White, London
 Ms D Wilkinson, UK NEQAS
 Ms L Zabaglo, UK NEQAS

Brazil

Dr N Pinheiro, Salvador

Germany

Dr Iris Nagelmeier, Kassel

Republic of Ireland

Mr K McAllister, Dublin
 Ms D McMahan, Dublin
 Dr T O'Grady, Dublin

Netherland

Dr E Erik Thunnissen, Amsterdam

Portugal

Dr J Cabecadas, Lisbon
 Mr A Ferro, Lisbon
 Mrs T Pereira, Lisbon
 Mr R Roque, Lisbon
 Mr J Matos, Lisbon
 Ms Rita Marques, Lisbon
 Ms S Moliveira, Lisbon

Slovenia

Mrs S Gabric, Ljubljana
 Mrs I Kirbis, Ljubljana
 Mr D Vidovic, Maribor

Italy

Dr Federica Filipello

35. VETRINI SOSTITUTIVI

I vetrini sostitutivi per quelli che arrivano rotti possono essere ottenuti contattando il team di amministrazione.

Email: info@codexitalia.it

Si prega di includere il codice partecipante e il motivo per cui si richiedono sostituzioni.

36. RICORSI E ASSISTENZA

I partecipanti che non sono soddisfatti dei loro punteggi possono presentare ricorso e far rivalutare le loro diapositive.

Le rivalutazioni hanno luogo durante la prima riunione dei valutatori dopo il ricevimento della richiesta. Se i punteggi di rivalutazione sono diversi da quelli originali, le schede dei punteggi e il database vengono modificati di conseguenza e al partecipante vengono inviati i punteggi modificati e una lettera di spiegazione.

È possibile presentare ricorso solo per l'esecuzione completata più di recente.

Verranno rivalutate solo le diapositive originariamente inviate. Non siamo in grado di riallocare o aggiornare i contrassegni sui vetrini appena colorati.

Un modulo di "Ricorso contro il risultato della valutazione" è disponibile sul sito Web UK NEQAS ICC & ISH.

I partecipanti che riscontrano difficoltà tecniche o richiedono informazioni su un particolare anticorpo o reagente sono incoraggiati a contattare lo Schema.

UK NEQAS ICC & ISH è sempre pronto ad assistere con consigli e risoluzione dei problemi.

I partecipanti sono invitati a inviare in qualsiasi momento diapositive per chiedere feedback e consigli. Il servizio che offriamo si distingue tra:

- Le richieste che si riferiscono a miglioramenti a un protocollo avviati da uno scarso risultato alla valutazione: questo è il servizio di miglioramento della qualità in seguito alla valutazione.
- Le richieste avviate dal laboratorio per introdurre un nuovo anticorpo primario o per migliorare una procedura esistente che non si riferiscono alle loro prestazioni durante la valutazione - richiesta di rinvio - per feedback o parere.

I moduli di richiesta per entrambi possono essere scaricati dal nostro sito Web (IMPORTANTE: non utilizzare il modulo di appello contro la valutazione UK NEQAS ICC & ISH).

Idealmente, tutti i laboratori che incontrano difficoltà dovrebbero contattare lo schema per un consiglio molto prima che vengano attivati i meccanismi di monitoraggio delle scarse prestazioni.

37. POLITICA DI RISERVATEZZA

UK NEQAS ICC & ISH mantiene la riservatezza dei risultati delle prestazioni dei partecipanti in ogni momento; tranne nei casi in cui il sistema è obbligato a informare gli organismi di regolamentazione (NQAAP) dei laboratori clinici del Regno Unito che continuano a presentare scarse prestazioni; questo per garantire che la sicurezza del paziente non sia messa in pericolo.

Durante le valutazioni, e in ogni successivo utilizzo dei dati per scopi didattici, l'identità dei partecipanti non viene mai divulgata.

Il collegamento del codice di partecipazione univoco con l'identità dei centri è disponibile solo per membri selezionati del personale UK NEQAS ICC & ISH

Laddove una terza parte o una parte interessata richieda informazioni sull'utilizzo dei dati di un singolo partecipante, questi saranno divulgati solo se il partecipante rinuncia al proprio diritto alla riservatezza. UK NEQAS ICC & ISH può fornire dati resi anonimi a terzi che hanno un coinvolgimento diretto in UK NEQAS ICC & ISH.

Se UK NEQAS ICC & ISH è legalmente obbligata a fornire dati a un organismo di regolamentazione o a un'altra organizzazione, i partecipanti saranno informati in tutti questi casi.

38. TERMINI GENERALI

Un partecipante attivo (laboratorio, organizzazione o individuo) iscritto ai nostri servizi, accetta e riconosce quanto segue:

- Informare CODEX ITALIA O UK NEQAS ICC & ISH di qualsiasi cambiamento di personale o recapiti.
- Citare il codice univoco dei partecipanti ogni volta che si contatta CODEX ITALIA O UK NEQAS ICC & ISH.
- Assicurarci che i vetrini siano imballati in modo sicuro per evitare rotture e possibili mancate valutazioni e restituiti nelle scatole per vetrini correttamente etichettate per facilitarne lo smistamento.
- Assicurarci che le diapositive siano chiaramente etichettate e nascondano l'identità del tuo sito .
- Rispettare le scadenze per l'invio: gli invii tardivi verranno registrati dal programma.
- Repertori anticorpali, la mancata dichiarazione di ciò può comportare una mancata presentazione (punteggio 0) e possibili problemi di scarso rendimento.
- Seguire i requisiti di colorazione specifici per ciascuno dei moduli sottoscritti.
- Inserimento completo dei protocolli metodologici.
- Dichiarare che la metodologia presentata è la stessa utilizzata nell'impostazione di routine del laboratorio.
- Elaborazione di procedure locali per l'EQA, compresa la gestione e l'interpretazione dei risultati .
- Rispettare l'aspetto dell'anonimato e della riservatezza dell'EQA durante la corrispondenza con altri laboratori.
- La sospetta collusione e/o la falsificazione dei risultati, dei dati o la manipolazione dei vetrini EQA comporterà la sospensione del/i partecipante/i da UK NEQAS ICC & ISH.
- UK NEQAS ICC & ISH richiede la gamma più ampia possibile di marcatori per ciascun modulo, ma non può coprire tutti gli antigeni o tipi di tessuto. I partecipanti dovrebbero avere le proprie attività di valutazione delle prestazioni alternative per coprire il proprio repertorio.

I risultati della valutazione forniti, sebbene riservati a ciascun partecipante, possono essere utilizzati dal partecipante come ritiene opportuno (ad esempio, stampati, inseriti nel sito Web, ecc.). Tuttavia, in nessun caso.

Se vengono utilizzati rapporti individuali in qualsiasi forma, è necessario includere la dichiarazione di accompagnamento: **"La partecipazione a UK NEQAS ICC & ISH non è un'indicazione delle prestazioni complessive del partecipante (laboratorio, organizzazione o individuo) e come tale non è un'approvazione della qualità complessiva della colorazione prodotta".**

39. Pubblicazioni recenti

- Dodson A, Parry S, Ibrahim M, et al. (2018). Breast cancer biomarkers in clinical testing: analysis of a UK national external quality assessment scheme for immunocytochemistry and in situ hybridisation database containing results from 199 300 patients. *J Pathol Clin Res.* 2018 Oct;4(4):262-273.
- Dodson A, Parry S, Lissenberg-Witte B, et al. (2019). External quality assessment demonstrates that PD-L1 22C3 and SP263 assays are systematically different [published online ahead of print, 2019 Dec 17]. *J Pathol Clin Res.* 2019;10.1002/cjp2.153. doi:10.1002/cjp2.153.
- Parry S, Dowsett M, Dodson A. (2021) UK NEQAS ICC & ISH Ki-67 Data reveal differences in performance of primary antibody clones. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2021 Feb 1;29(2):86-94.

L'organizzazione ospitante del programma nazionale di
UK National External Quality Assessment Scheme for
Immunocytochemistry and In-Situ Hybridisation è:

External Quality Assessment Services for Cancer
Diagnostics.

Una società di interesse comunitario limitata dal
numero della società di garanzia: 10585826