



SEAP

Calle Ancora, 3, 2º B
28045 MADRID
Tfno. y Fax 91 539 86 28
Mail: seap@seap.es



Programa de
Garantía de Calidad
en Patología

Módulo de PATOLOGÍA QUIRÚRGICA GENERAL

Ronda nº 6

Antígeno probado: SMA (Actina Específica de Músculo Liso)

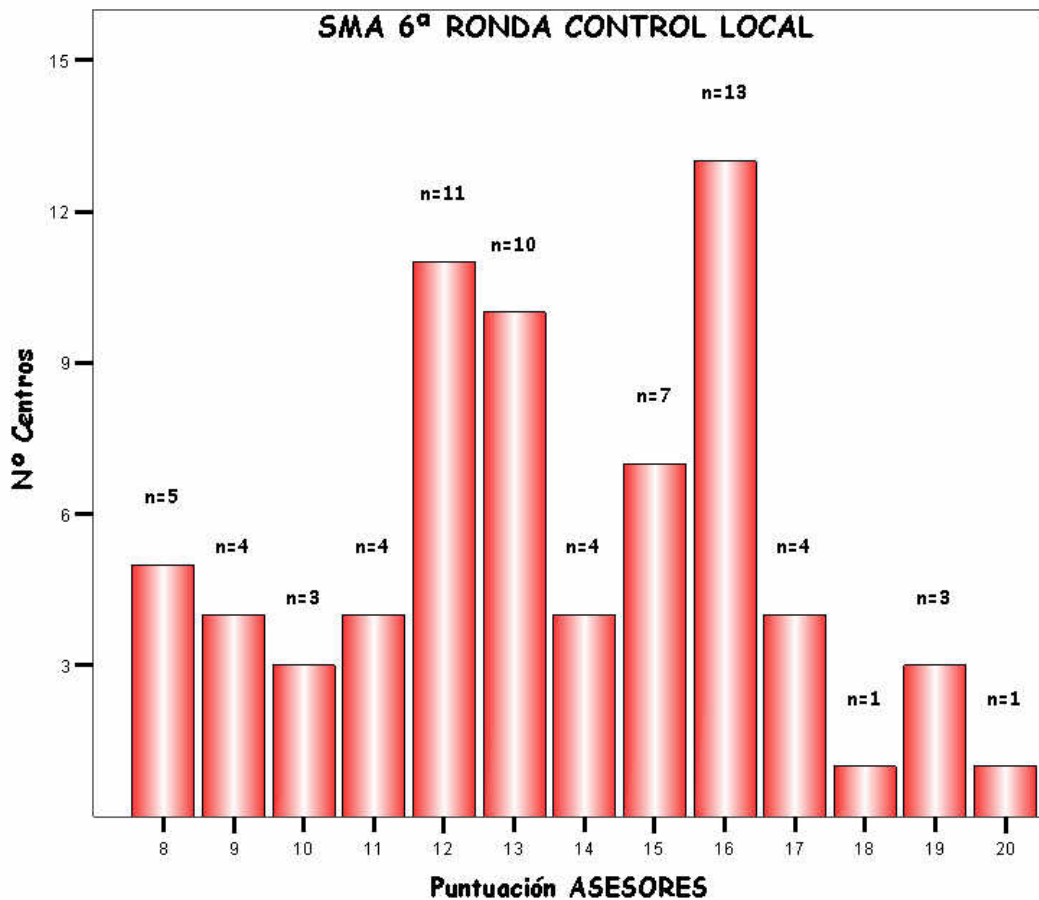
Tejido probado: Apéndice.

Instrucciones: Los participantes fueron invitados a teñir con SMA la preparación remitida por el programa (apéndice fijado en formol al 10%, pH 7 durante 24 horas) y su propia preparación control, devolviendo ambas preparaciones para su evaluación. Este anticuerpo, por sus especiales características, ha sido el elegido para valorar la estabilidad de la técnica en el tiempo, y por tanto se ha incluido en las tres rondas de este año 2005.

Número de laboratorios participantes:

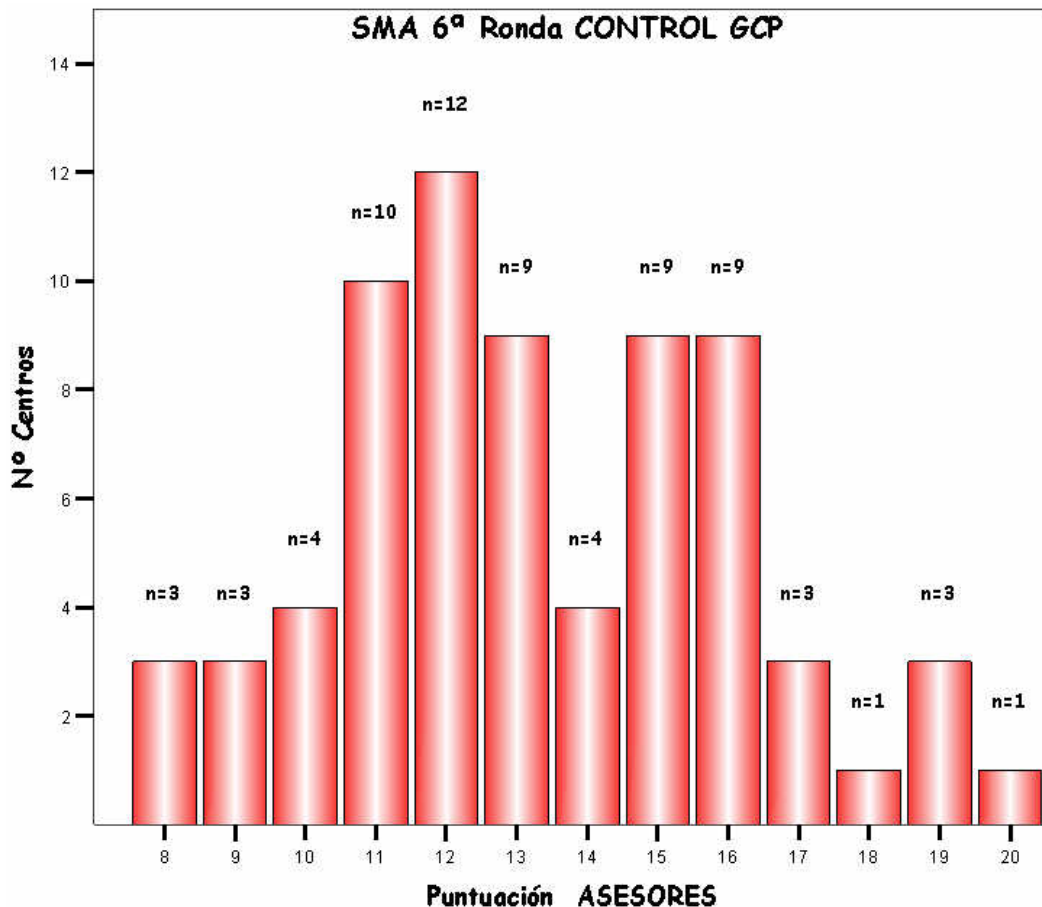
- Remitidos: 84
- Contestados: 71 **GCP** (84,5%) y 70 (83,3%) **Control Local**

Estudio de los controles de cada centro: Los resultados de la evaluación fueron los siguientes:



Considerando que una puntuación igual o superior a 12 se considera aceptable, el 77,1 % de las preparaciones remitidas se consideraron como aceptables, con un 31,4 % con una puntuación igual o superior a 16/20, consideradas como óptimas o próximas al grado óptimo. Estos valores son superiores a los observados en ambas rondas previas, con un apreciable aumento de ambos índices (11% y 13% respectivamente). Al final del informe se apunta una posible explicación global. Los principales problemas detectados han sido una alta frecuencia de pretratamiento excesivo (sobrecalentamiento, pH inadecuado) de forma generalizada, así como ligera tinción de fondo y específicamente en los casos con puntuación inferior a 16/20, una intensidad de la tinción inferior al esperable. En los casos con menor puntuación, además, destacaban los artefactos técnicos generales (hidratación, contraste inadecuado por exceso o defecto, defectos en la manipulación con rotura del corte, etc), y especialmente una inadecuada selección de los tejidos control, bien por problemas técnicos (especialmente fijación o artefacto del tejido).

Estudio de los controles remitidos por el programa GCP:

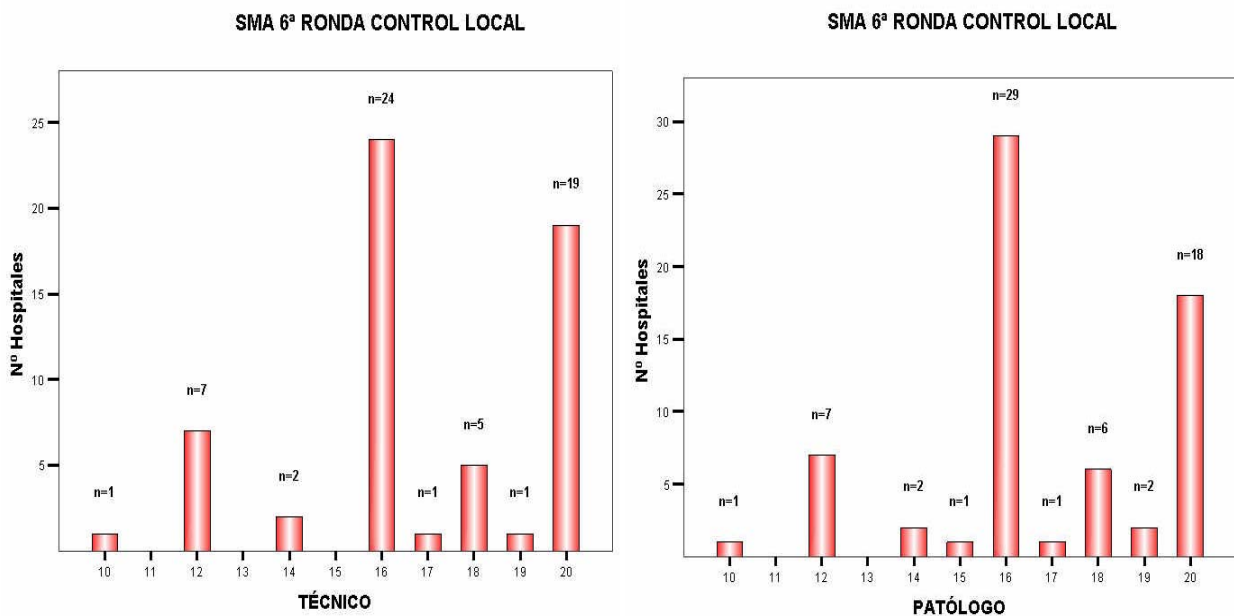


Considerando que una puntuación igual o superior a 12 se considera aceptable, el 71,8% de las preparaciones remitidas se consideraron aceptables. Esta cifra es intermedia con respecto a las observadas en las rondas previas, en las que fue de un 79,7% (5ª) y de un 63,4% (4ª). Un 23,9% obtuvieron una puntuación igual o superior a 16/20, consideradas como óptimas o muy cerca de la tinción óptima, superior al de la 4ª ronda (18,7%), e inferior al de la 5ª (25,3%). Al igual que en la ronda previa, pero en esta en un mayor número de preparaciones, el principal problema detectado ha sido una intensidad de la tinción o un número de células teñidas inferior al esperable, con una menor frecuencia de ligera tinción de fondo. Este hecho puede tener como consecuencia una disminución de la sensibilidad de la técnica, con posibles problemas para la detección de casos con relativa escasez de antígeno. Como en rondas anteriores siguen observándose artefactos técnicos generales (hidratación, contraste inadecuado por exceso o defecto, defectos en la manipulación con rotura del corte, etc), que suponen una merma global de la calidad de la técnica.

Resultados de la autoevaluación: Como se indica en las instrucciones remitidas, la autoevaluación es una parte importante del programa de Garantía de Calidad. El 85,7 % de los técnicos y el 95,7 % de los patólogos participantes remitieron su valoración de los controles locales y el 85,9 % y el 95,8% respectivamente del control del GCP. Estas cifras son muy superiores a las de la rondas previas, y, a pesar del esfuerzo que suponen, parecen indicar un aumento en la asunción de la necesidad y utilidad de la autoevaluación.

Los resultados obtenidos en esta ronda son los siguientes:

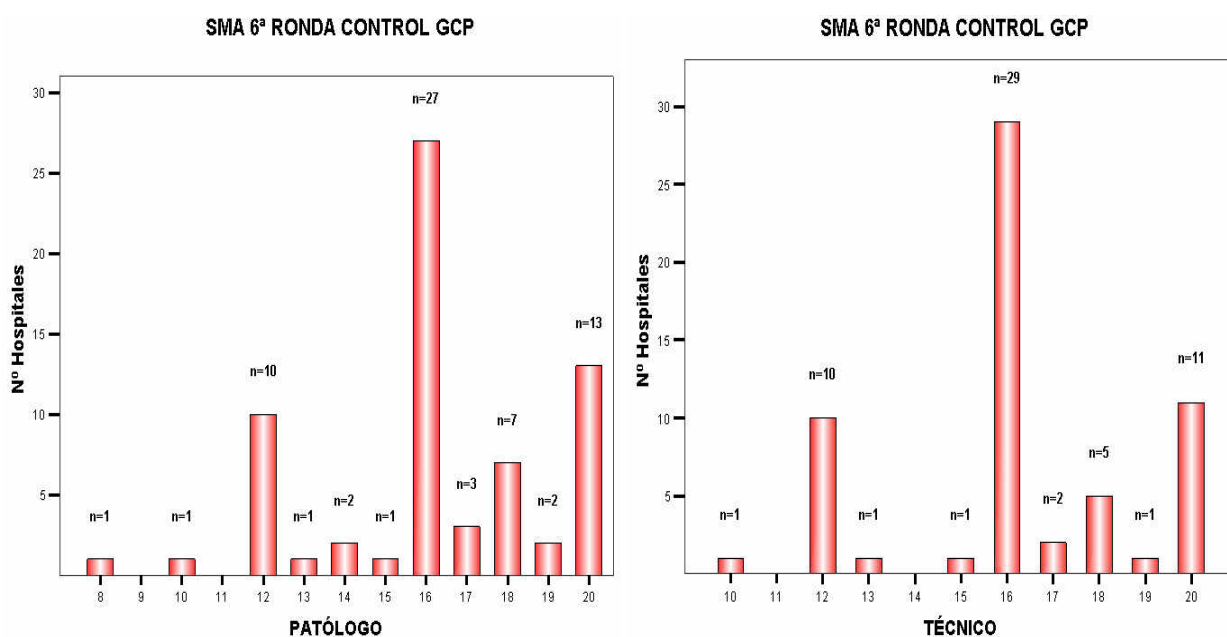
Control Local



Como se puede observar en los gráficos, al igual que en las rondas anteriores la percepción local sobre los resultados de la técnica es superior a la valoración de los observadores externos. Para los técnicos participantes el 83,3 % de los casos tenían una puntuación igual o superior a 16/20. Este porcentaje era del 83,6 % en el caso de los patólogos. Estos valores son más del doble de lo obtenido de acuerdo con la valoración externa.

Control del GCP

Los resultados son similares al control local, con un 78,7% de preparaciones con una puntuación igual o superior a 16/20 para los técnicos, y un 76,5 % para los patólogos. Es evidente la notable discrepancia con las valoraciones de los asesores externos (23,9% frente a 76,5 %), aunque la diferencia se ha reducido con respecto a la ronda previa. Sin embargo la apreciación de los técnicos sigue siendo muy superior, y quizás fuera adecuada una labor de instrucción sobre la valoración de la técnica, en la que puede ser útil la consulta a las imágenes en la web de la SEAP, con ejemplos de diferentes casos representativos de cada una de las valoraciones.



Inmunotinción óptima: Se consideró una inmunotinción óptima a la que mostraba teñidas las células de músculo liso tanto de la capa muscular propia del apéndice como la de la pared de los vasos y de la muscular de la mucosa con una adecuada relación en la intensidad de la tinción con respecto al contraste empleado y con mínimo o ausente artefacto tanto de técnica inmunohistoquímica (degradación del tejido por sobrecalentamiento, tinción de fondo, p. ej.) como de técnica histológica (contraste adecuado, ausencia de hidratación, etc). Los criterios generales de puntuación empleados son los reflejados en las hojas de resultados individuales remitidas. Para ejemplos de las diferentes valoraciones se puede visitar la página web de la SEAP, en el apartado del programa de Garantía de Calidad.

Mejores métodos (puntuación de 20/20 en las preparaciones del GCP):

Método: ENVISION

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: DAKO AUTOSTAINER

Digestión enzimática: NO

Recuperación antigénica con calor: SI: Olla a presión 3 minutos en tampón citrato a pH 9

Anticuerpo primario: DAKO, clon 1A4, dilución 1:90 durante 30 minutos a temperatura ambiente (23 °C).

(puntuación de 18/20 en las preparaciones del GCP):

Método: ENVISION

Bloqueo: DAKO CHEMMATE PEROXIDASE BLOCKING SOLUTIONS

Automatización: DAKO TECHMATE HORIZON

Digestión enzimática: NO

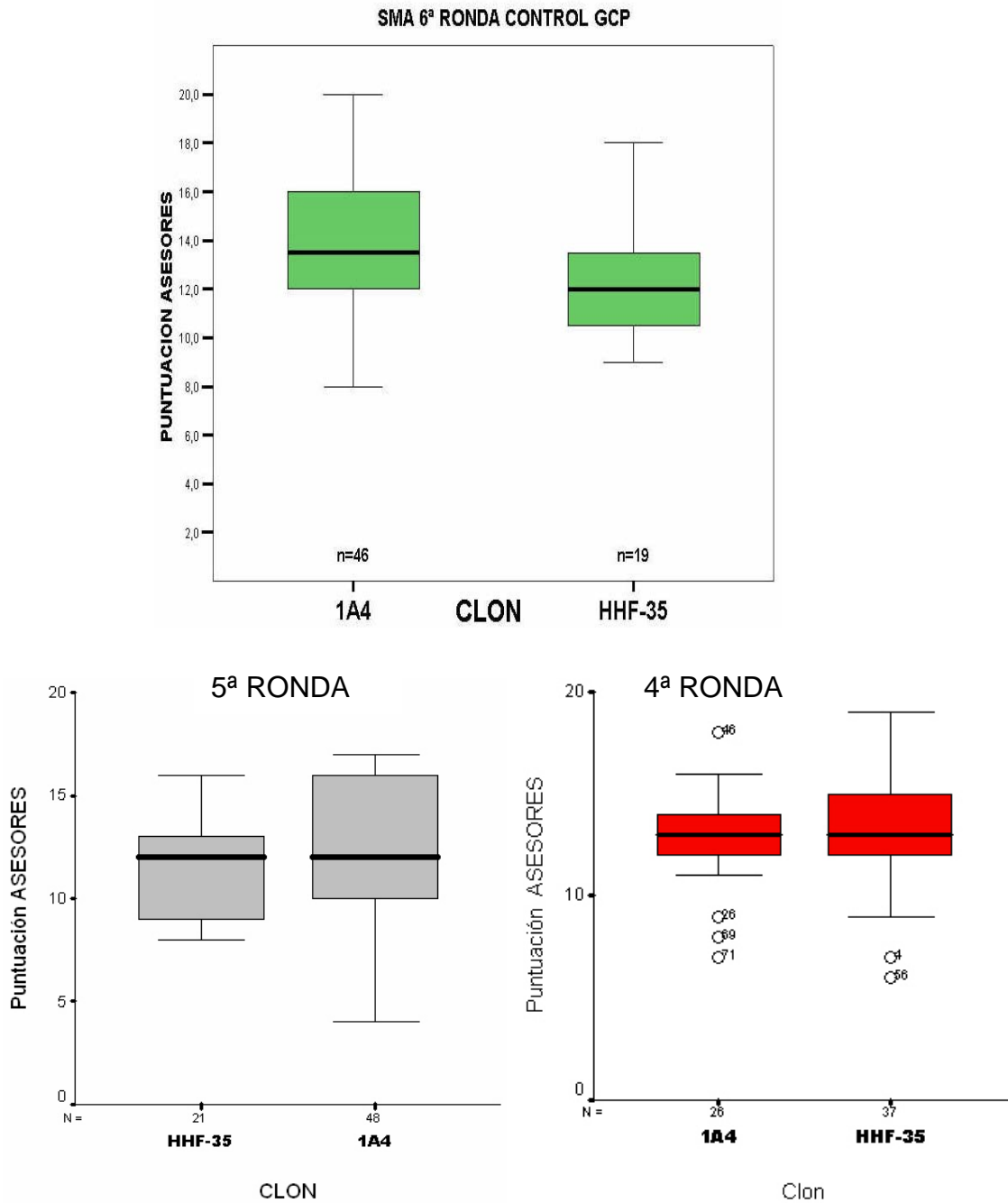
Recuperación antigénica con calor: NO.

Anticuerpo primario: DAKO, clon HHF35, prediluido durante 30 minutos a 20 °C.

Cromógeno: DAB DAKO 2% 2,5 min a 20 °C.

Comentarios: En conjunto, la mayoría de los resultados son adecuados para su utilización rutinaria. Sin embargo hay un porcentaje apreciable con deficiencias, especialmente en la intensidad de la tinción, que podrían ocasionar una disminución en la sensibilidad de la técnica para la detección de células con relativamente escasa cantidad de antígeno, que habitualmente no son percibidas ni por el técnico responsable ni por el patólogo.

Para este antígeno hay disponibles en el mercado dos clones diferentes que tienen además, a juzgar por lo publicado hasta el momento, diferente sensibilidad. De los participantes en esta ronda que lo especifican un 25% emplean el clon HHF-35, un 70,8 %, el clon 1A4, y el resto (4,2%) otros. Estas cifras son similares a las de la 5ª ronda y difieren de las observadas en la 4ª ronda, con un notable incremento de los laboratorios que emplean el clon 1A4 y una disminución similar del uso del clon HHF-35 (41,3% frente a 69,6% y 58,7% frente a 30,4% respectivamente).



De la 5ª a la 6ª ronda hubo 40 laboratorios que mantuvieron el clon empleado, mientras que 9 cambiaron de HHF-35 a 1A4 y otros 9 de 1A4 a HHF-35.

Al contrario de las rondas anteriores hay una ligera diferencia, estadísticamente significativa ($p=0,049$), entre la mediana de las puntuaciones obtenidas según el anticuerpo empleado a favor del clon 1A4 (13,5 frente a 12). A la vista del gráfico de dispersión de valores de los resultados (ver gráficos), la consistencia observada en la 4ª ronda para el clon 1A4 se ha perdido, aumentando notablemente la variabilidad de los

mismos tanto en la 5ª como en la 6ª ronda. La tendencia inversa parece observarse con respecto al clon HHF35, aunque sin alcanzar la consistencia inicial del clon 1A4.

Una posible explicación a este fenómeno es que queda en los laboratorios que han cambiado de clon una labor de optimización de la técnica en el resto de los factores implicados (recuperación antigénica, tiempos, concentración etc), labor que parece encontrarse realizada a medias si se comparan los gráficos para el clon 1A4 entre la 5ª y la 6ª rondas. En la tabla se resumen los principales estadísticos obtenidos en este estudio comparativo.

1A4	R	CV	AMPLI	IQR	OUTLIERS	X	MD
GCP	4	5.41	7-18=11	2	Uno=18, Tres <= 9	12.35	13
	5	3.64	8-16=8	5	-	11.81	12
	6	5.07	8-20=12	4	-	13.85	13.5
LOCAL	4	5.13	7-19=12	5	Dos <= 8	14.5	14
	5	4.58	6-17=11	5	-	12.32	12
	6	4.58	8-20=12	4	Uno = 20	13.91	14.5
HHF-35							
GCP	4	4.67	6-19=13	3	Dos <= 7	12.7	13
	5	4.51	4-17=13	6	-	12.33	12
	6	4.74	9-18=9	4	Uno = 18	12.37	12
LOCAL	4	3.4	7-20=13	5	-	13	12.97
	5	4.79	8-16=8	4	-	12.14	12
	6	4.47	8-19=11	3.25	Uno = 19	12.72	12.5

R=Ronda; CV=coeficiente de variación; IQR=Rango intercuartílico; X=media; MD=Mediana.

Una de las principales conclusiones que se pueden extraer de la comparación entre los controles locales y los remitidos desde el GCP es la recomendación de emplear como control **tejido no neoplásico** (p. ej. apéndice, pared intestinal) con un **número y localización de células inmunorreactivas conocido**, al igual que el control negativo, y fijado en condiciones conocidas y controladas. Habitualmente este tipo de tejido control puede usarse con diferentes anticuerpos, y es fácil de obtener en cualquier departamento de Anatomía Patológica.