

MÓDULO DE PATOLOGÍA QUIRÚRGICA GENERAL

3.ª RONDA

Antígeno probado: Citoqueratina de alto-bajo Peso molecular (Ae3-Ae1).

Tejido probado: SEAP-GCP-RIÑÓN LOCAL.-VARIABLE

Instrucciones: Los participantes fueron invitados a inmunotestear Ae3-Ae1 en las preparaciones proporcionadas por el programa (tejido fijado en formol al 10%, pH 7 durante 24 horas) y su propia preparación control, devolviendo ambas preparaciones para su evaluación.

Número de laboratorios participantes:

- Remitidos: 80.
- Contestados: 54 (GCP) y 48 (Control Local).
- 67,5% y 60% de participación respectivamente.

Estudio de controles de cada centro: Los participantes remitieron los controles que utilizaron para el Ae3-Ae1.

Los controles remitidos fueron en su mayoría riñón (32,8%), piel (26,2%) y amígdala (19,7%).

Guía utilizada para la evaluación: Cada uno de los cuatro expertos concedieron una puntuación entre 0 y 5, lo que daba una puntuación entre 0 y 20 puntos. La puntuación fue como sigue:

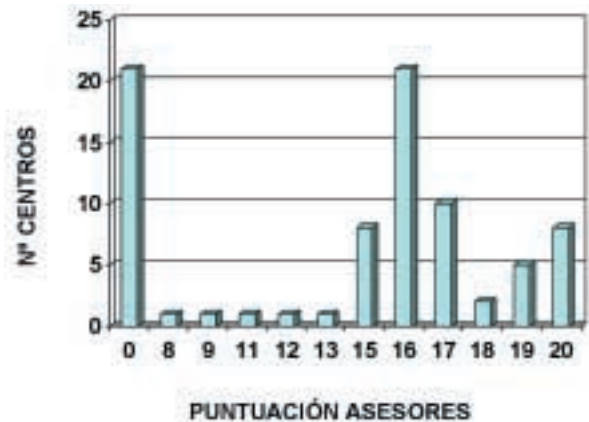
| PUNTUACIÓN | PATRÓN DE TINCIÓN |
|------------|---|
| 0 | No remisión de preparaciones |
| 1-2 | Tinción citoplasmática menor de lo esperado o de calidad no aceptable |
| 3 | Tinción correcta aunque con deficiencias evidentes |
| 4-5 | Tinción generalizada correcta/perfecta |

Inmunotinción óptima: Se ha considerado una buena técnica cuando se puede observar:

1. Definida e intensa señal citoplásmica en células epiteliales.
2. Inexistente tinción nuclear o de membrana.
3. Ausencia total de tinción de fondo/inespecífica.
4. Ausencia de señal en células no epiteliales, aunque se considera apta la expresión débil en células endoteliales o músculos lisos, en determinadas circunstancias.

Puntuaciones: Las puntuaciones obtenidas por todos los participantes han sido:

1. Gráfica correspondiente a las valoraciones globales de los Asesores en el Control del GCP en AE3-AE1 en riñón



Comentarios GCP: En conjunto la mayoría de los resultados eran adecuados para el diagnóstico.

- El 94,9% de los participantes obtuvieron una valoración igual o superior a 12, considerándose aceptable la inmunotinción para Ae3-Ae1.
- El 78% de los centros se consideró una técnica muy buena o excelente para Ae3-Ae1 con una puntuación igual o superior a 16.
- A los centros con una valoración inferior a 12 (5,1%) no siendo totalmente deficiente la técnica en algunos casos, se aconseja una revisión de los protocolos para una mejor calidad.

Los protocolos/procedimientos que han obtenido una puntuación máxima según las hojas de cumplimentación remitidas por los profesionales son:

1) Método: Envision

Automatismo: Home-Made.

Buffer y pH: Tampón Tris y Ph 7.4.

Bloqueo: H₂O₂.

Recuperación antigénica: Baño María, Citrato 10 mM pH 5,8, 75 minutos en total.

Anticuerpo primario: BIOMEDIA N.º V3022 clon CK22, con concentración 0,8-0,9 mg/l, con una dilución 1/400, durante 16 horas a 20°C.

Cromógeno: DAB 12 minutos a temperatura ambiente.

2) Método: EnVision.

Automatismo: TechMate 500 de DakoCytomation.

Buffer y pH: Citrato, Ph 6,2.

Bloqueo: H₂O₂ ZENITH.

Recuperación antigénica: Olla a presión.

Anticuerpo primario: Ae3-Ae1 de DakoCytomation a dilución 1/50 durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Cromógeno: Dako DAB K5007.

3) *Método:* EnVision.

Automatismo: ?

Buffer y pH: ?

Bloqueo: H₂O₂.

Recuperación antigénica: Olla a presión, Retrieval pH 6 durante 2 minutos a presión máxima.

Anticuerpo primario: Ae3-Ae1 de DakoCytomation a dilución 1/50 durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Cromógeno: Envision.

4) *Método:* LSAB.

Automatismo: TechMate 500 de DakoCytomation.

Buffer y pH: Los del Kit Ae3-Ae1 para TechMate.

Bloqueo: H₂O₂.

Recuperación antigénica: Olla a presión, Citrato 10 mM pH 6, 2 minutos.

Anticuerpo primario: Ae3-Ae1 de DakoCytomation durante 25 minutos a temperatura ambiente.

Cromógeno: Dako DAB K5011 durante 6 minutos a temperatura ambiente.

5) *Método:* PAP.

Automatismo: ?

Buffer y pH: Se realiza digestión enzimática.

Bloqueo: ?

Recuperación antigénica: Sin calor.

Anticuerpo primario: DakoCytomation M3515 a dilución 1/50 durante 60 minutos a 37°C.

Cromógeno: DAB Ventana.

6) *Método:* StrepAv marcada.

Automatismo: TechMate 500 de DakoCytomation.

Buffer y pH: Los del Kit Ae3-Ae1 para TechMate.

Bloqueo: H₂O₂.

Recuperación antigénica: Olla a presión, Citrato 10 mM pH 6,5, 2 minutos.

Anticuerpo primario: Ae3-Ae1 de DakoCytomation a dilución 1/500 durante 40 minutos a temperatura ambiente.

Cromógeno: Dako DAB.

7) *Método:* Envision.

Automatismo: TechMate Horizon de DakoCytomation.

Buffer y pH: Dako buffer.

Bloqueo: H₂O₂.

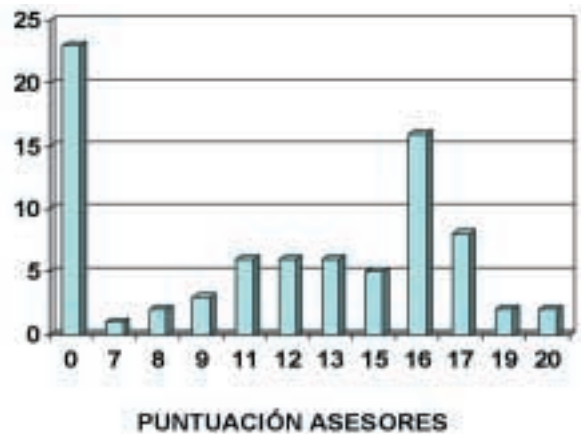
Recuperación antigénica: Se realizó digestión enzimática.

Anticuerpo primario: 1590 policlon de DakoCytomation prediluido durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Cromógeno: Dako DAB K5007.

? Datos no aportados por el laboratorio participante.

2. *Gráfica de valoración global de los controles locales*



Comentarios: En conjunto la mayoría de los resultados eran adecuados para el diagnóstico.

- El 78,9% de los participantes obtuvieron una valoración igual o superior a 12, considerándose aceptable la inmunotinción para Ae3-Ae1.
- El 49,1% de los centros se consideró una técnica muy buena o excelente para Ae3-Ae1 con una puntuación igual o superior a 16.
- A los centros con una valoración inferior a 12 (21,1%), no siendo totalmente deficiente la técnica en algunos casos, se aconseja una revisión de los protocolos para una mejor calidad.

Los protocolos/procedimientos que han obtenido una puntuación máxima según las hojas de cumplimentación remitidas por los profesionales son:

1) *Método:* Envision.

Automatismo: Home-Made.

Buffer y pH: Tampón Tris y Ph 7,4.

Bloqueo: H₂O₂.

Recuperación antigénica: Baño María, Citrato 10 mM pH 5,8, 75 minutos en total.

Anticuerpo primario: BIOMEDIA N.º V3022 clon CK22, con concentración 0,8-0,9 mg/l, con una dilución 1/400, durante 16 horas a 20°C.

Cromógeno: DAB 12 minutos a temperatura ambiente.

2) *Método:* EnVision.

Automatismo: BIOGENEX-OPTIMAX.

Buffer y pH: ?

Bloqueo: H₂O₂.

Recuperación antigénica: Presión, Citrato, pH 6, durante 3 minutos de máxima presión.

Anticuerpo primario: BIOGENEX prediluido 30 minutos a temperatura ambiente.

Cromógeno: DAB 10 minutos a temperatura ambiente.

? Datos no aportados por el laboratorio participante.

Los artefactos más comunes han sido (tanto estudio local como GCP):

- Tinción adecuada, pero de intensidad mejorable (heterogénea).
- Tinción ligera de células epiteliales.
- Pretratamiento excesivo (degradación del tejido).
- Artefacto técnico importante (cortes gruesos, irregulares).
- Tejido control inadecuado (escasa representación de células con expresión conocida de citoqueratinas).

Sugerencias para disminuir estos problemas en la técnica (tanto estudio local como GCP):

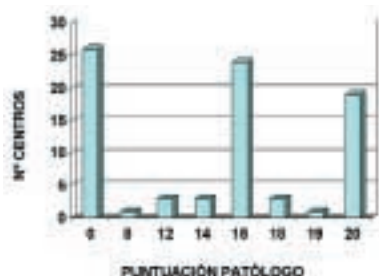
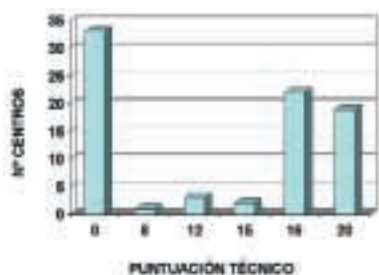
- Ajustar los tiempos de fijación de las muestras.
- Revisar los procesos de desmascaramiento antigénico: equipos, tampones, tiempos, pH y temperatura.
- Ajustar las diluciones y los tiempos de incubación de los reactivos.
- Evitar que las preparaciones extensas/grandes o gruesas/irregulares se dessequen durante la técnica para que permitan una «exposición» homogénea a los reactivos empleados en la misma.

RESULTADOS DE LA AUTOEVALUACIÓN

1. Control local

El 58,8% de los Técnicos y el 67,5% de los Patólogos remitieron la autoevaluación.

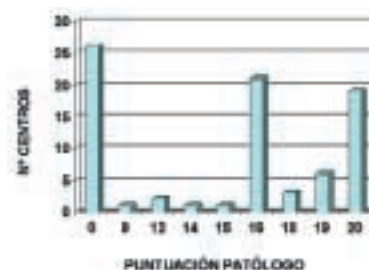
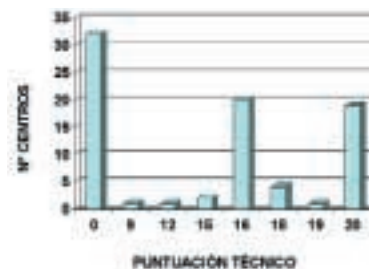
En general los resultados de la autoevaluación fueron muy similares entre las realizadas por el técnico y el patólogo de un mismo centro.



2. Control remitido por GCC

El 60% de los Técnicos y el 67,5% de los Patólogos remitieron la autoevaluación.

En general los resultados de la autoevaluación fueron muy similares entre las realizadas por el técnico y el patólogo de un mismo centro.



EVALUACIÓN DE LA CONCORDANCIA ENTRE RESULTADOS

Se ha realizado un estudio básico de la concordancia entre:

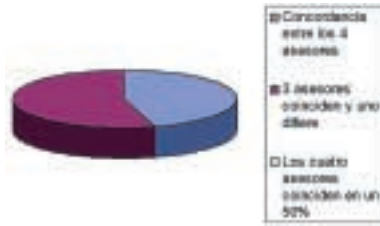
- La evaluación de los asesores entre sí.
- La evaluación entre el técnico y el patólogo.
- La evaluación entre técnico, patólogo y asesores.

Este estudio se ha realizado tanto para el estudio local como para el control GCP. Los resultados se describen a continuación:

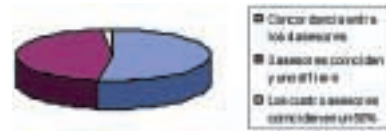
ESTUDIO LOCAL

EVALUACIÓN ASESORES:

- Concordancia entre los cuatro asesores: **45,6%** de los casos evaluados.
- 3 asesores coinciden y 1 difiere: **54,4%** de los casos evaluados.
- Los cuatro asesores coinciden en un 50%: **0%** de los casos evaluados.



- 3 asesores coinciden y 1 difiere: **45,8%** de los casos evaluados.
- Los cuatro asesores coinciden en un 50%: **1,7%** de los casos evaluados.



EVALUACIÓN TÉCNICO-PATÓLOGO:

- Concordancia Técnico-Patólogo: **71,7%** de los casos evaluados.
- Discordancia Técnico-Patólogo: **28,3%** de los casos evaluados.

EVALUACIÓN TÉCNICO-PATÓLOGO:

- Concordancia Técnico-Patólogo: **69,1%** de los casos evaluados.
- Discordancia Técnico-Patólogo: **30,9%** de los casos evaluados.

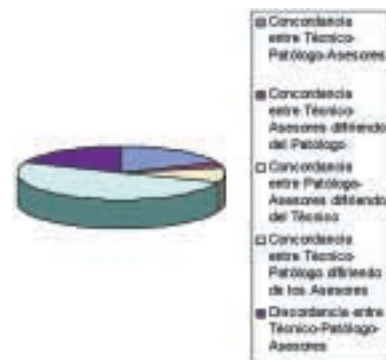
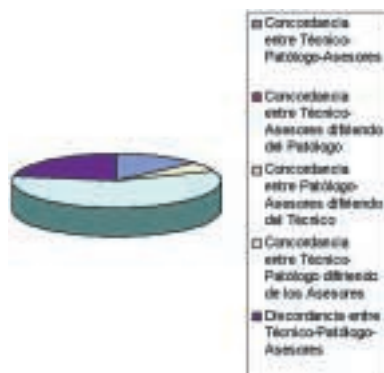


EVALUACIÓN TÉCNICO-PATÓLOGO-ASESORES:

- Concordancia entre Técnico-Patólogo-Asesores: **13,2%** de los casos evaluados.
- Concordancia entre el Técnico y los asesores difiriendo del Patólogo: **0%** de los casos evaluados.
- Concordancia entre el Patólogo y los asesores difiriendo del Técnico: **5,7%** de los casos evaluados.
- Concordancia entre Técnico y Patólogo difiriendo de los asesores: **58,5%** de los casos evaluados.
- Discordancia entre Técnico-Patólogo-Asesores: **22,6%** de los casos evaluados.

EVALUACIÓN TÉCNICO-PATÓLOGO-ASESORES:

- Concordancia entre Técnico-Patólogo-Asesores: **18,2%** de los casos evaluados.
- Concordancia entre el Técnico y los asesores difiriendo del Patólogo: **3,6%** de los casos evaluados.
- Concordancia entre el Patólogo y los asesores difiriendo del Técnico: **9,1%** de los casos evaluados.
- Concordancia entre Técnico y Patólogo difiriendo de los asesores: **50,9%** de los casos evaluados.
- Discordancia entre Técnico-Patólogo-Asesores: **18,2%** de los casos evaluados.



ESTUDIO GCP

EVALUACIÓN ASESORES:

- Concordancia entre los cuatro asesores: **52,5%** de los casos evaluados.