



SEAP

Calle Ancora, 3, 2º B
28045 MADRID
Tfno. y Fax 91 539 86 28
MAIL: SEAP@SEAP.ES



GARANTÍA DE CALIDAD

Programa de Garantía de
Calidad en Patología

Módulo de PATOLOGÍA QUIRURGICA

Ronda nº 8

Antígeno probado: S100

Tejido probado: Apéndice

Instrucciones: Los participantes fueron invitados a teñir con proteína S100 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.

Número de laboratorios participantes:

- Remitidos: 94
- Contestados: 81 GCP y Control local (%)

Anticuerpos y Métodos evaluados:

Anticuerpos Primarios:

DAKO Policlonal	47
Novocastra Policlonal	11
Clon 4c4-9 Master	8
Biogenex 15E2E2	8
Zymed Zy44	4
Ventana Policlonal	2
Biomeda Policlonal	1
Signet Policlonal	1

Recuperación antigénica:

- Calor: 52 (64%)
Microondas
Olla a presión
Baño María
PT Module Lab Vision
- Digestión enzimática 11 (14%)

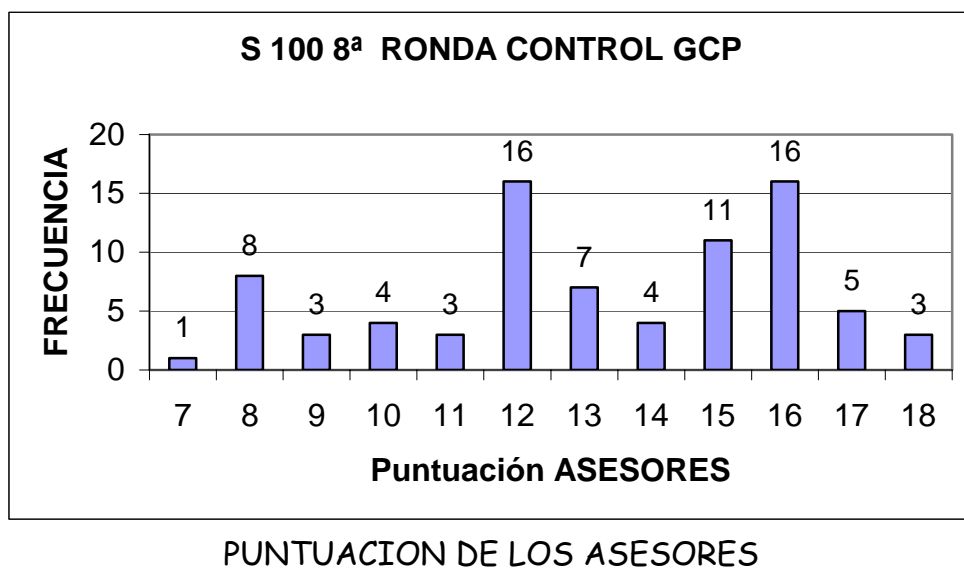
Detección:

Dako Envision
Dako LSAB+/2
Ventana
Biogenex

Automatización: 72 (82 %)

Dako Techmate 500 (12,3 %)
Dako Techmate Horizon (11,1 %)
Lab Vision Autostainer (40,7 %)
Optimax Biogenex (2 %)
Bond X/Bond Max (11,1 %)
Ventana (Benchmark o Nexes) (13,5 %)
Sin especificar (9,3 %)

Estudio de los controles remitidos por el programa GCP:



Considerando que una puntuación igual o superior a 12 se considera aceptable, el 76,54 % (62) de las preparaciones remitidas se consideraron

como aceptables, con un 29,63 % (24) con una puntuación igual o superior a 16/20, consideradas como óptimas o cercanas.

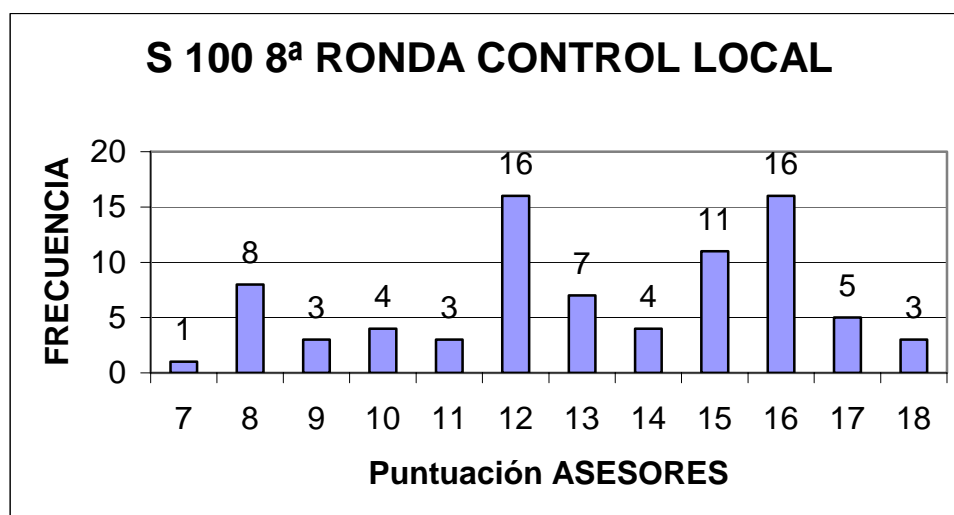
Un 23,46 % de los centros participantes (19) no alcanza el nivel mínimo para considerar que la técnica puede aplicarse de manera rutinaria.

Los principales problemas detectados son los habituales:

- Alta frecuencia de tinción irregular, con distintas intensidades en las que se observan áreas del tejido con una intensidad de la tinción o número de células inmunorreactivas inferior al esperable.
- Artefactos técnicos generales (hidratación, contraste inadecuado por exceso/defecto, defectos en manipulación con rotura del corte, etc.).

Estudio de los controles de cada centro:

Los resultados de la evaluación fueron los siguientes:



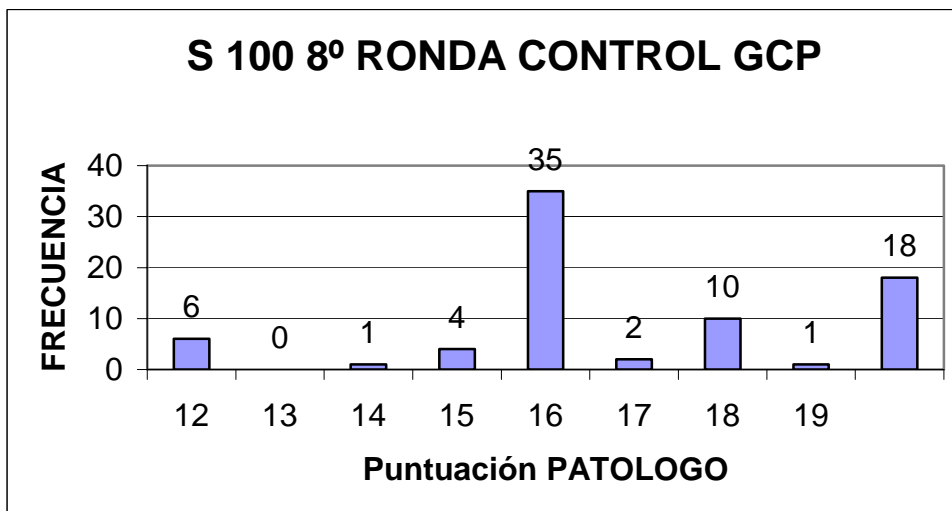
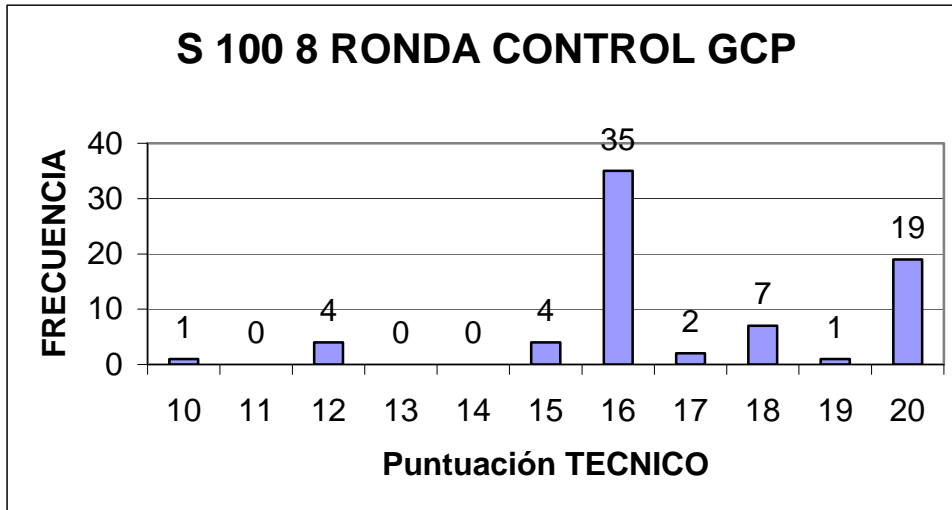
PUNTUACION DE LOS ASESORES

Teniendo en cuenta que una puntuación igual o superior a 12 se considera aceptable, el 76,54% de las preparaciones remitidas se estimaron aceptables. Un 29,63 obtuvieron una puntuación igual o superior a 16/20, consideradas como óptimas o cercanas. Un 34,46% de los centros no alcanzaron la calidad suficiente para considerar que la técnica puede aplicarse de manera rutinaria.

Existieron pocas discrepancias en los resultados respecto al control GCP-SEAP, con una alta frecuencia de tinción irregular, tinciones de intensidad débil o insuficiente y presencia de leve fondo inespecífico. Un porcentaje reseñable de casos mostró signos de pretratamiento (exceso de tiempo y/o calor).

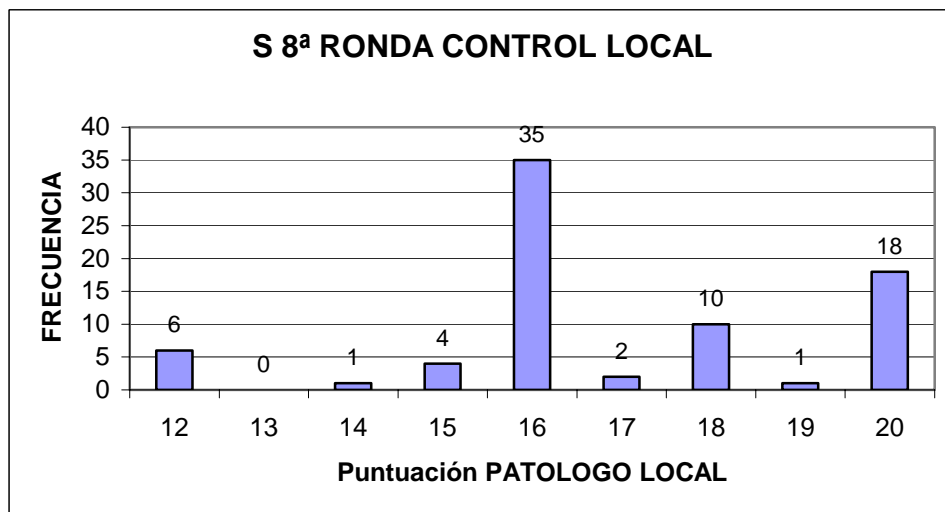
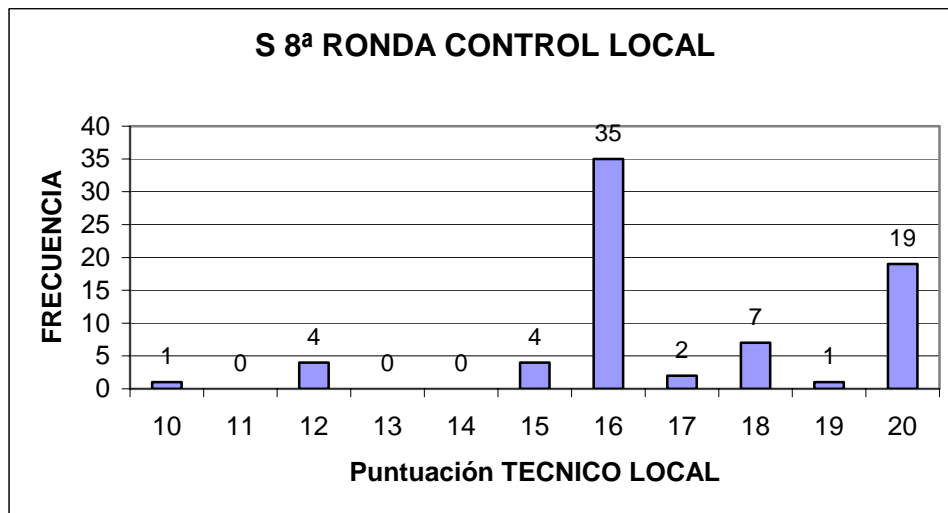
Resultados de la autoevaluación: El 90% (73) de los técnicos y el 95% (77) de los patólogos participantes remitieron su valoración de los controles locales y del control del GCP. Los resultados obtenidos del análisis de tales datos son los siguientes:

Control del GCP



Como se puede observar en los gráficos y reconocemos en la mayoría de las técnicas analizadas, la percepción local sobre los resultados es muy superior a la valoración de los observadores externos. Para los técnicos participantes el 87,67% de los casos tenían una puntuación igual o superior a 16/20. Este porcentaje era del 85,71% en el caso de los patólogos. En ambos casos esas cifras eran muy superiores a las de los observadores externos (29,63%).

Control Local



Los resultados son similares al control de GCP, con un 87,67% de preparaciones con una puntuación igual o superior a 16/20 para los técnicos, y un 85,71% para los patólogos, Sigue observándose una notable discrepancia con la valoración de los asesores externos (que era del 29,635

Los controles locales remitidos fueron apéndice (40, 49,3%), piel (19, 23,4%), amígdala (5, 6%), nervios (2, 2,4%), Intestino delgado (2, 2,4%), melanoma maligno (2, 2,4%), partes blandas (2, 2,4%), schwannoma (1, 1,2%), lengua (1, 1,2%), cuerda vocal (1, 1,2%), colon (1, 1,2%), miscelánea (1, 1,2%), ganglio linfático (1, 1,2%), y mama (1, 1,2%).

Valoración Inmunotinción:

Se consideró una inmunotinción óptima a la que mostraba teñidas con un patrón citoplasmático o citoplasmático y nuclear las células (neuronas y células de Schwann) de los plexos nerviosos intestinales y terminaciones nerviosas intersticiales, adipocitos, macrófagos de la lámina propia y células dendríticas de los centros foliculares de los folículos linfoides, 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:

Método: ENVISION

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: DAKO TECHMATE 500 Plus

Digestión enzimática: No

Recuperación antigénica con calor: Olla a presión 3 minutos en tampón citrato a pH 6

Anticuerpo primario: DAKO policlonal, 1:400 durante 30 minutos a 22°

Cromógeno: DAB DAKO 8 min.

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

Método: ENVISION

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: DAKO TECHMATE 500 Plus

Digestión enzimática: No

Recuperación antigénica con calor: Olla a presión 3 minutos en tampón citrato a pH 6

Anticuerpo primario: DAKO policlonal, 1:1000 durante 30 minutos a temperatura ambiente

Cromógeno: DAB DAKO K5007

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

Método: IVIEW

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: VENTANA BENCHMARK XT

Digestión enzimática: No

Recuperación antigénica con calor: Ventana, tampón citrato a pH 8,1

Anticuerpo primario: Vitro prediluido

Cromógeno: DAB IVIEW ATOM

(puntuación de 20/20 en las preparaciones del Control Local)

Comentarios Generales:

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

La extensa ubicuidad de la expresión de la proteína S100, como ya se refería en el informe previo de la 7ª Ronda de Patología Quirúrgica, dificulta establecer los límites de la sensibilidad y especificidad de la técnica a la hora de la valoración.

Lo más llamativo sigue siendo la heterogeneidad en la tinción de las células dendríticas de los centros foliculares apendiculares (Control del GCP), presumiblemente secundaria al tipo de anticuerpo empleado, pues son detectadas/marcadas por la mayor parte de los laboratorios que emplean anticuerpo policlonal, y escasamente por el 20% de los que emplean un anticuerpo monoclonal. Teniendo en cuenta este hecho, sigue siendo importante la orientación diagnóstica en la que se emplee este anticuerpo para evitar falsos resultados negativos.

En resumen, los resultados son relativamente heterogéneos, en gran medida por las características de la diana, el tipo de anticuerpo empleado y el método de la recuperación antigénica. Como suele ser habitual en los comentarios, la combinación juiciosa de los diferentes factores implicados parece ser la clave de unos buenos resultados.

Comentarios de comparación con los resultados de la 7ª Ronda de Patología Quirúrgica para el mismo anticuerpo:

1º Los resultados globales, tanto en el control GCP como en el control local, son sensiblemente mejores que en la ronda anterior:

- Control GCP-SEAP y control local:
 - 76,54 % aceptables (igual o superior a 12/20) vs 66,4 %
 - 29,63 % óptimas (igual o superior a 16/20) vs 20,8 %

2º La autoevaluación sigue siendo netamente superior a la evaluación externa, tanto por parte de los técnicos como de los patólogos:

- 98,63 % (técnicos) y 100% (patólogos) aceptables vs 76,54 %
- 87,67 % (técnicos) y 85,71 % (patólogos) óptimos vs 29,63 %

3º Se mantiene la distribución de utilización de anticuerpo policlonal y monoclonal en los laboratorios (75,3% en Ronda 7ª versus 77,2% en Ronda 8ª).

4º Se mantiene el porcentaje de laboratorios que utilizan recuperación antigénica (calor o digestión enzimática) y su distribución.

5º Los resultados según la utilización o no de recuperación antigénica y su distribución también se mantienen, manteniéndose los mejores/óptimos resultados puntuales con recuperación inducida por calor.

6º Como ya se apuntaba en los comentarios de la Ronda anterior (7ª), quizá debiera plantearse utilizar criterios de valoración distintos según el anticuerpo utilizado, dada la distinta sensibilidad y especificidad de los anticuerpos policlonales y monoclonales.