



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 IHQ GENERAL

RONDA 35

Antígeno probado: HMB45

Tejido probado:

- ✓ SEAP GCP: cortical renal y melanoma
- ✓ LOCAL: El tejido más frecuentemente empleado como control local ha sido melanoma (primario o metastático) y una pequeña proporción de lesiones melanocíticas benignas (Nevus Spitz, nevus azul y nevus melanocítico), piel sin tumor, ganglio (con metástasis de melanoma) y en algunos casos riñón.

Instrucciones:

Los participantes fueron invitados a teñir con HMB45 (MSA) la preparación remitida por el programa (sección de corteza renal y sección de melanoma) fijado en formol al 10%, pH 7 durante 24 horas y su propia preparación control, devolviendo ambas preparaciones para su evaluación, así como las condiciones y protocolos de tinción utilizados.

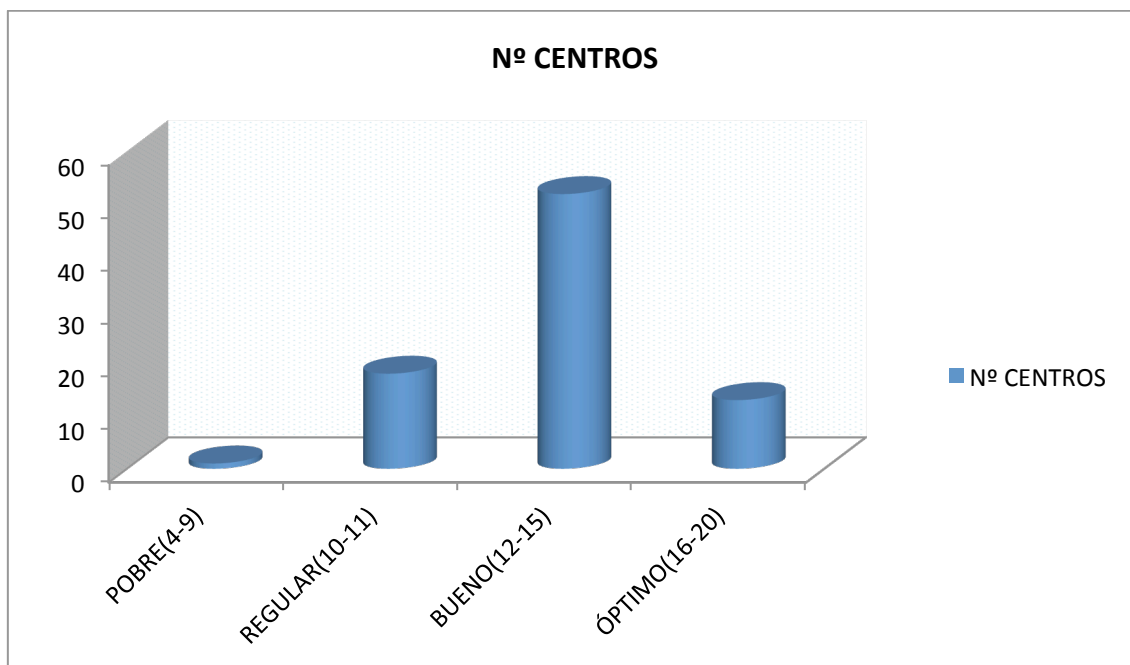
Número de laboratorios participantes:

- Remitidos: 88
- Contestados: 84 **GCP** (95.45 %) y 83(94.31%) **Control Local**

Estudio de los controles remitidos por el programa GCP:

Los resultados de la evaluación externa fueron los siguientes:

HMB45 GCP

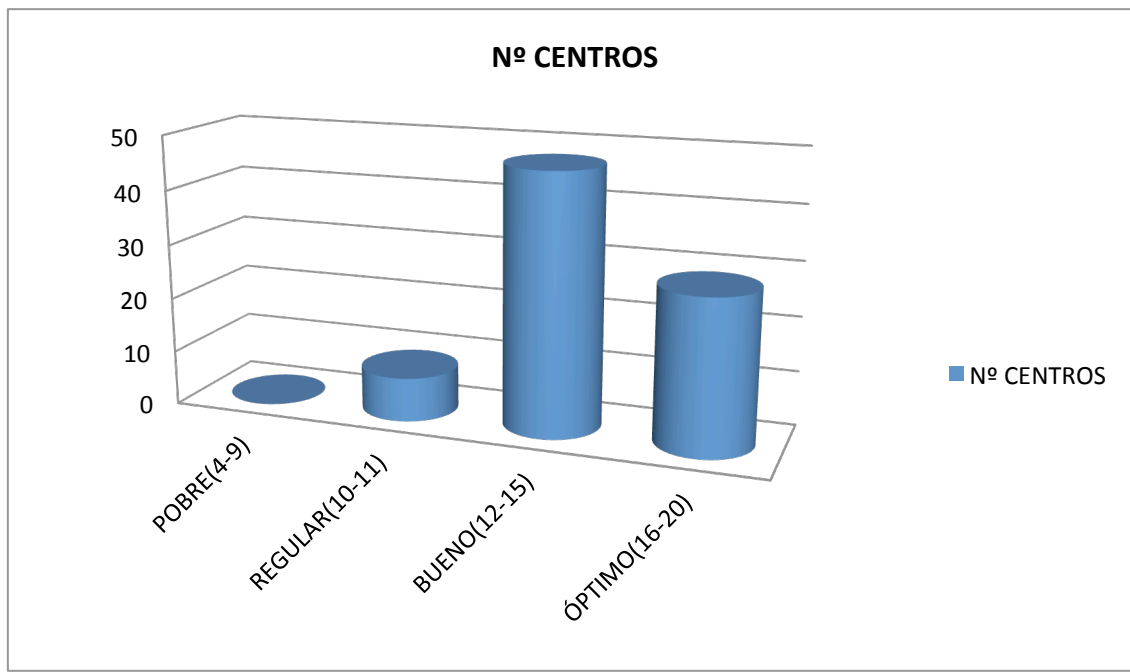


El 61,90% de las preparaciones remitidas se consideraron **aceptables** (puntuación igual o superior a 12). El 15,47% de las preparaciones fueron consideradas **óptimas**(16-20). El 22,61% de los centros participantes no alcanza el nivel mínimo para considerar que la técnica pueda aplicarse de manera rutinaria.

Los problemas más frecuente por los que las técnicas no han alcanzado el nivel óptimo en orden decreciente de frecuencia se ha observado: En un 62% de los centros participantes se observó tinción de fondo (**Fig.1**) (con mayor frecuencia tinción de fondo ligera), en un 34,2% pretratamiento excesivo con degradación de los tejidos (**Fig.2**), en un 24,2% problemas con el contraste(habitualmente contraste escaso), en un 22,8% tinción ligera o muy ligera, en un 15,7% tinción irregular y en un 8,5% tinción inadecuada de algunas células (**Fig.3**).

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

HMB45 CONTROL LOCAL



Considerando que una puntuación igual o superior a 12 se considera aceptable, el 56,62% de las preparaciones remitidas se consideran aceptables. El 33,7 % de los centros obtuvieron una puntuación óptima, y sólo el 9,6% no alcanza el nivel mínimo para considerar que la técnica puede aplicarse de manera rutinaria.

Los principales problemas por los que las técnicas no alcanzaron el nivel óptimo fueron: el más frecuente (73,5 %) se debe a degradación del tejido por pretratamiento excesivo; en un 27,9% de los centros se observó tinción de fondo ligera o moderada; en 25% de los centros tinción ligera o muy ligera de las células diana; en 22% problemas con el contraste (con más frecuencia contraste escaso); en 14,7% se observó artefacto técnico.

El tejido empleado como control local, ha sido con mayor frecuencia (69,1%) melanoma (**Fig.4**) cutáneo, primario en un 62,7% y metastático en un 6,4 % de los casos. Un 5,3 % de los centros utilizaron tumores benignos cutáneos y un 1,4% piel sin

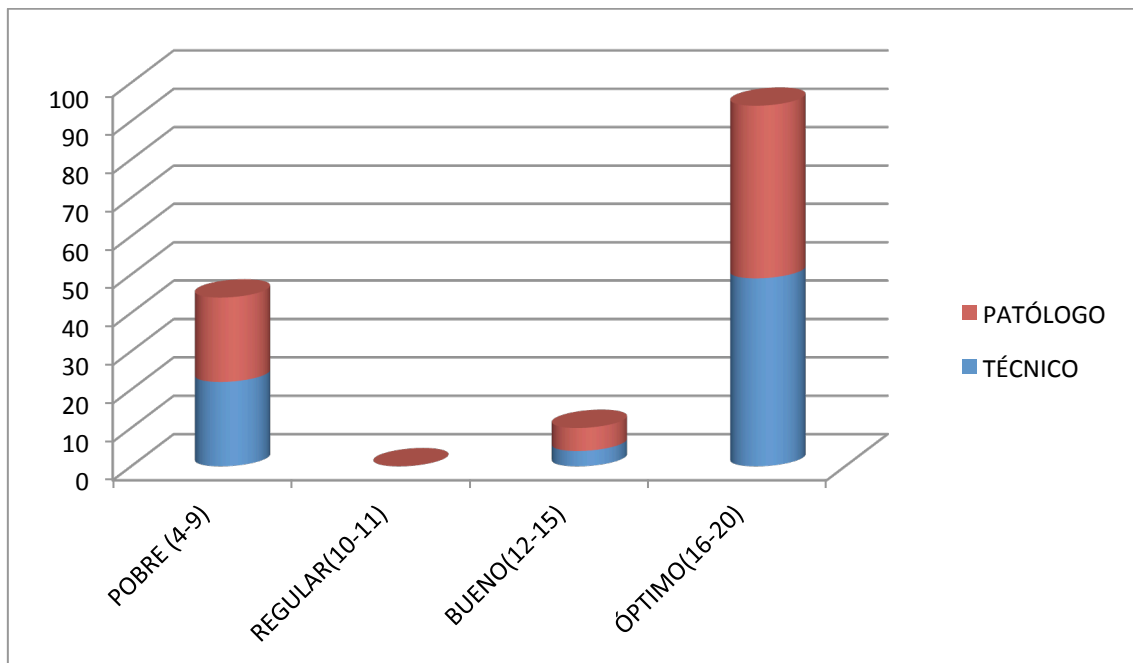
lesión melanocítica. El 7,5% de los centros utilizaron ganglios linfáticos.

Un 15,9% de los laboratorios participantes no especificaron el tejido empleado para control local.

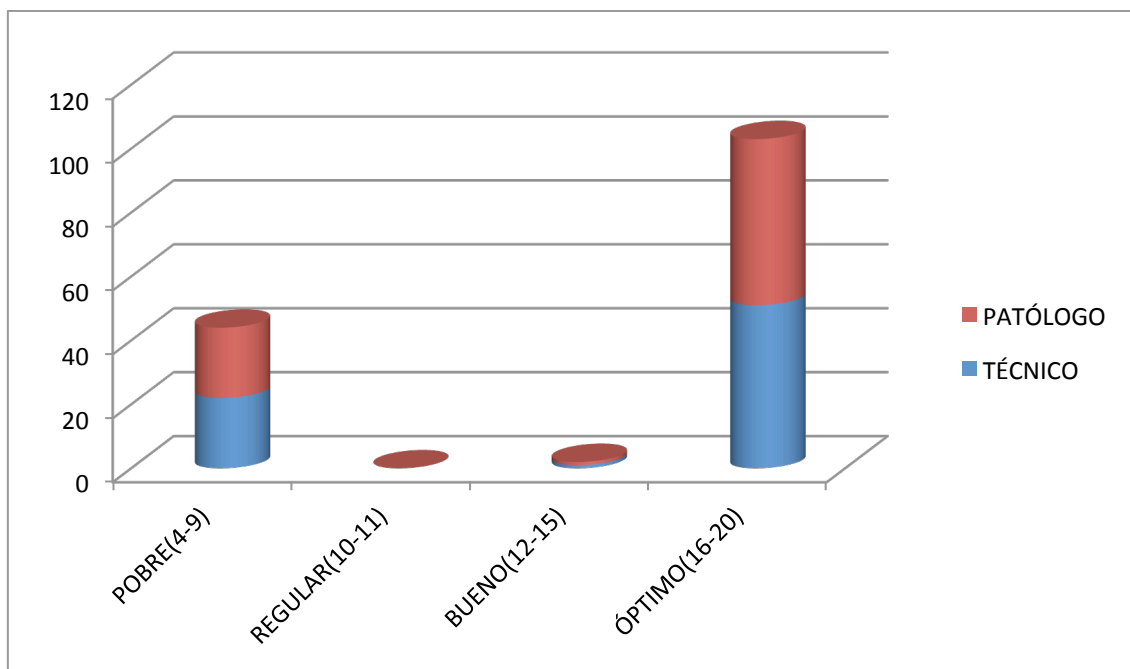
Resultados de la autoevaluación: La autoevaluación es una parte importante del programa de Garantía de calidad. El 92,8% de los técnicos y el 97,1% de los patólogos han remitido autoevaluación de los controles de GCP, y el 92,6 % de los técnicos y el 95,5% de los patólogos remitieron su valoración de control local. Estas cifras son superiores a los porcentajes de autoevaluación en otras rondas tanto por parte del técnico como del patólogo. Los resultados obtenidos fueron:

AUTOEVALUACIÓN TÉCNICO/PATÓLOGO

CONTROL GCP:



CONTROL LOCAL:



El 67,10% de los técnicos y el 68,4% de los patólogos valoraron como óptimas (puntuación mayor de 16) sus propias muestras control. Mientras, estas mismas muestras fueron valoradas como óptimas por el grupo de evaluadores en sólo el 33,7% de los casos.

La apreciación de los técnicos y patólogos sigue siendo superior a los asesores externos, tanto en control GCP como en control local. Esta tendencia a sobrevalorar los resultados de la técnica podría corregirse observando minuciosamente detalles como intensidad de la tinción, presencia de tinción inespecífica no deseada, fondo, degradación del tejido por pretratamiento excesivo o irregularidad en la tinción en diferentes áreas de la preparación.

Inmunotinción óptima: Los criterios consensuados usados en la evaluación para considerar la tinción de HMB-45 como óptima fueron los siguientes:

-Melanoma: Tinción citoplasmática de moderada a fuerte en la mayoría de las células neoplásicas. Ausencia de reacción de tinción en la piel con excepción de los melanocitos reactivos

-Riñón: Ausencia de tinción en el tejido renal.

La tinción en ambos tejidos se debe acompañar de una adecuada relación en la intensidad de la tinción respecto al contraste empleado y con mínimo o ausente artefacto tanto de técnica inmunohistoquímica (degradación del tejido por sobrecalentamiento, tinción de fondo,...etc.) como de técnica histológica (contraste adecuado, ausencia de hidratación,.. etc.).

Una buena técnica, utilizada por varios laboratorios es el uso de Fosfatasa Alcalina o Fast Red que dan un pigmento rosado o rojizo en lugar del marrón de la DAB. El problema del uso de Fosfatasa Alcalina como cromógeno en lugar de la DAB, es que tiende a difundir y dar una tinción de fondo o inespecífica.

Anticuerpos empleados: EL 10% de los centros no especificaron el clon utilizado.

El 100% de los centros que lo especificaron emplearon el clon HMB-45. Melanosoma antígeno específico (MSA) se encuentra en los premelanosomas. MSA está presente en los melanocitos inmaduros y activados, pero no en los melanocitos maduros.

Mejores métodos empleados:

-Puntuación 18/20 de GCCP:

Método: ENVISION

Bloqueo: Agua oxigenada
Automatización: DAKO autostainer
Digestión enzimática: No
Recuperación antigénica con calor. Si
Tampón y PH: citrato ph alto (pt link)
Anticuerpo primario: DAKO HMB45 (IR052)
Cromógeno: DAB

-Puntuación 20/20 DE LOCAL:
Método: ULTRAVIEW
Bloqueo: Agua oxigenada
Automatización: VENTANA-ROCHE
Digestión enzimática: No
Recuperación antigénica con calor. Si
Tampón y PH: CC1
Anticuerpo primario: VENTANA
Cromógeno: DAB

COMENTARIOS:

En general las tinciones de la mayoría de los centros son buenas y aplicables al diagnóstico rutinario con el HMB45. Sin embargo hay un porcentaje apreciable con deficiencias técnicas, que podrían llevar a errores de diagnóstico, en caso de tinciones con fondo y excesivo pretratamiento o en casos, por defecto, con tinciones insuficientes.

En algunos casos, el control local seleccionado no fue el adecuado para mandar al control de calidad, por ser muestras demasiado pequeñas o que necesitan conservarse para posteriores estudios (biología molecular, etc...).

Se recomienda emplear tejidos controlados tanto en su fijación como en su procesado posterior. En casos con gran cantidad de pigmento melánico, se recomienda usar como cromógenos la fosfatasa alcalina o el fast red. Hay laboratorios que también utilizan Giemsa, en lugar de la hematoxilina como contratinción, ya que permite distinguir con claridad las células positiva teñidas de marrón con DAB de los melanófagos, que adquieren un color verdoso con el Giemsa.