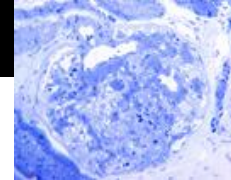


MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISSÃO:

DIAGNOSTICAR COM CONTROLO DE QUALIDADE



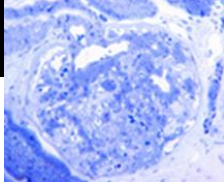


Introdução

Microscopia Electrónica de Transmissão: implementação de métodos de controlo de qualidade

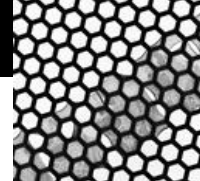


Processos de certificação e/ou acreditação dos Serviços de Anatomia Patológica



Método de Controlo de Qualidade:

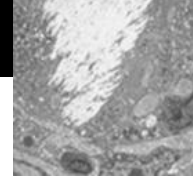
- servir de indicador de qualidade e monitorizar a actividade
- melhoria contínua dos procedimentos



Objectivo

Apresentar o método de controlo de qualidade utilizado no sector de Microscopia Electrónica do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Prof. Dr. Fernando Fonseca, E.P.E.

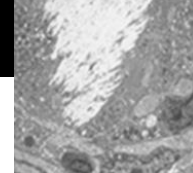
- Como se aplica;
- Em que consiste;
- Resultados;
- Conclusões / contributo para o sector



Material e métodos

Como é aplicado?

- Início: segundo trimestre de 2011
- Todos os casos estudados, após o encerramento das análises
- Médicos e técnicos da área de Microscopia Electrónica



Em que consiste?

Avaliação

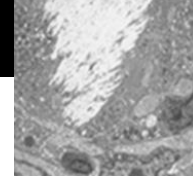
- Processamento
- Corte e coloração de semi-finos
- Corte e contraste de ultra-finos

Classificação de 1 a 3 = 3 – (valores atribuídos a artefactos)

$\geq 2,8$	Muito Bom
$< 2,8$ e $\geq 2,5$	Bom
$< 2,5$ - ≥ 2	Satisfaz
< 2	Não Satisfaz

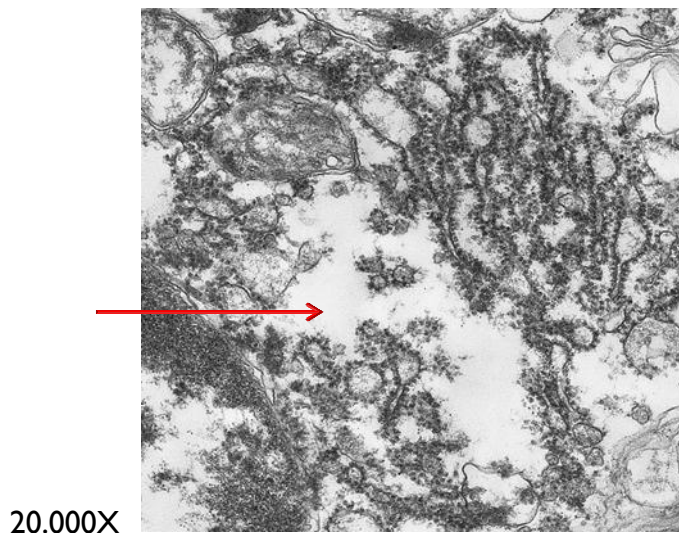


Impacto no estudo das amostras



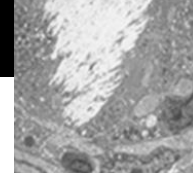
Processamento...

CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO				Avaliação	
Artefactos	Artefactos que não dificultam o estudo das amostras	Artefactos que dificultam o estudo das amostras mas não impedem a realização de diagnóstico	Artefactos que impedem a realização de diagnóstico		
A- Extração de componentes tecidulares ✓	- 0,2	- 0,5	- 2	≥ 2,8	Muito Bom
B- Alterações osmóticas	- 0,2	- 0,5	- 2	< 2,8 e ≥ 2,5	Bom
C- Má preservação das estruturas	- 0,2	- 0,5	- 2	< 2,5 - ≥ 2	Satisfaz
D- Dificuldades no corte devido a problemas no processamento/ inclusão (blocos duros, moles, hidratados, etc)	- 0,2	- 0,5	- 2	< 2	Não Satisfaz



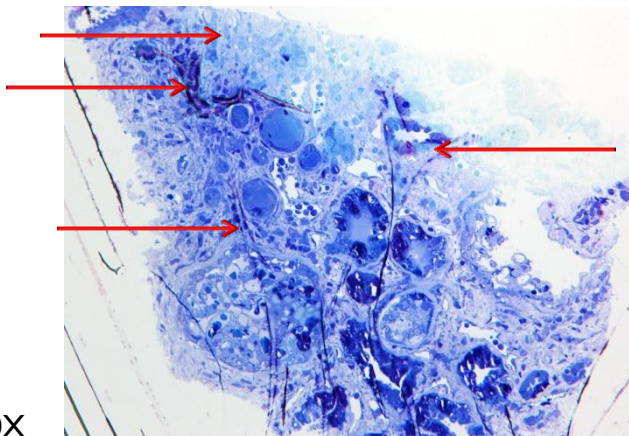
Avaliação:

$$3 - 0.2 (A) = 2.8 \text{ Muito Bom}$$

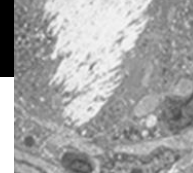


Corte e coloração de semi-finos...

CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO				AVALIAÇÃO	
Artefactos	Artefactos que não dificultam observação e/ou fotografia nem dificultam posterior corte de UF	Artefactos que dificultam observação e/ou fotografia e/ou podem dificultar posterior corte de UF	Artefactos que impedem observação e/ou fotografia e/ou impedem posterior corte de UF		
A- Estrias	-0,2	-0,4	-2	≥ 2,8	Muito Bom
B- Buracos em áreas não calcificadas	-0,2	-0,4			
C- Contaminações (céls epiteliais, etc)	-0,1	-0,2		< 2,8 e ≥ 2,5	Bom
D- Intensidade de coloração (fraca, forte, irregular) ✓	-0,1	-0,2			
E- Depósitos de corante ✓	-0,1	-0,2		< 2,5 - ≥ 2	Satisfaz
F- Bolhas de água	-0,1	-0,2			
G- Pregas ✓	-0,1	-0,2		< 2	Não Satisfaz
H- Artefactos de montagem ✓	-0,1	-0,2			

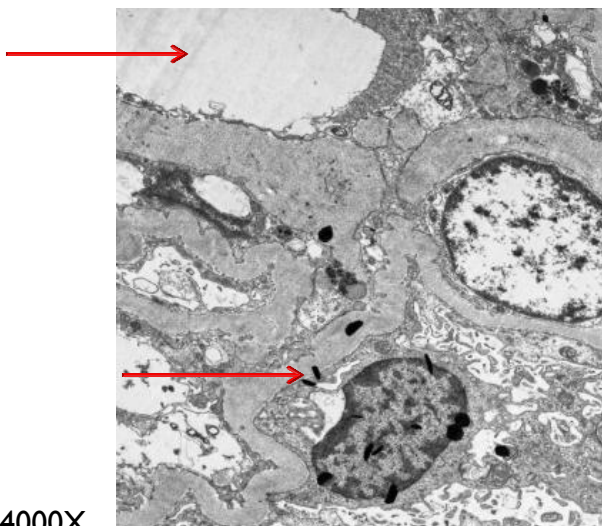


$$3 - 0.2(D) - 0.2(G) - 0.1(E) - 0.1(H) = 2.4 \text{ Satisfaz}$$



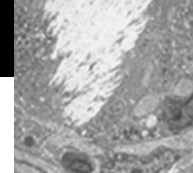
Corte e contraste de ultra-finos...

AMPLIAÇÃO		CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO			AVALIAÇÃO	
	Artefactos	Artefactos que não dificultam a observação da área pretendida da grelha e/ou o mapeamento fotográfico.	Artefactos que dificultam a observação da área pretendida da grelha e/ou o mapeamento fotográfico.	Artefactos que impedem a observação da área pretendida da grelha e/ou o mapeamento fotográfico.		
Baixa ampliação (≤ 8000x)	A- Buracos	-0,1	-0,4	-2	≥ 2,8	Muito Bom
	B- Estrias ✓	-0,1	-0,4			
	C- Pregas	-0,1	-0,4		< 2,8 e ≥ 2,5	Bom
	D- Contaminação	-0,1	-0,4			
	E- Depósitos grosseiros ✓	-0,1	-0,4		< 2,5 - ≥ 2	Satisfaz
	F- Depósitos finos	-0,1	-0,4			
				< 2	Não Satisfaz	



4000X

$$3 - 0.4 (B) - 0.4 (E) = 2.2 \text{ Satisfaz}$$



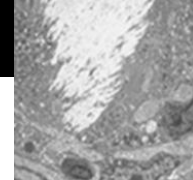
Corte e contraste de ultra-finos...

AMPLIAÇÃO	CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO			AVALIAÇÃO		
	Artefactos	Artefactos que não dificultam observação de detalhes da ultraestrutura celular ou extracelular	Artefactos que dificultam observação de detalhes da ultraestrutura celular ou extracelular			Artefactos que impedem a observação de detalhes da ultraestrutura celular ou extracelular
Média (>8000x - ≤25000x) e Alta ampliação (>25000)	G- Buracos	-0,1	-0,2	-2	≥ 2,8	Muito Bom
	H- Estrias ✓	-0,1	-0,2			
	I- Pregas	-0,1	-0,2		< 2,8 e ≥ 2,5	Bom
	J- Depósitos grosseiros	-0,1	-0,2		< 2,5 - ≥ 2	Satisfaz
	K- Depósitos finos ✓	-0,1	-0,2			
	L- Espessura excessiva	-0,1	-0,2			





30.000X

$$3 - 0.2 (H) - 0.2 (K) = 2.6 \text{ Bom}$$

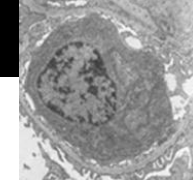


No final...

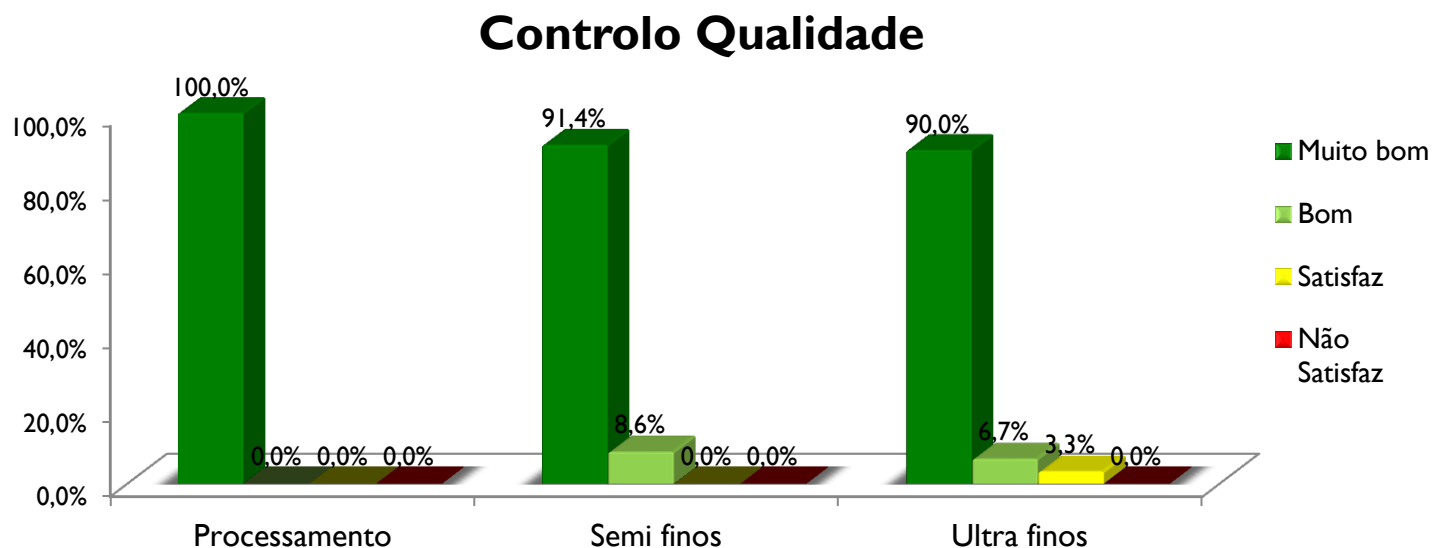
Registo da classificação e artefactos que originaram os sucessivos descontos.

		Serviço de Anatomia Patológica					
Microscopia Electrónica							
Registo de Controlo de Qualidade							
Nº CASO	PROCESSAMENTO	CRITÉRIOS	CORTES SEMI-FINOS	CRITÉRIOS	CORTE ULTRA-FINOS	CRITÉRIOS	OBSERVAÇÕES
	3,0		2,0	H	2,0	A	
	3,0		3,0		2,0	A	
	2,0	A	3,0		3,0		
	3,0		3,0		2,0	F	
	3,0		2,0	D			
	3,0		3;2	H	2,0	A	
	2,0	A	2,0	AH	3,0		
	3,0		3,0		2,0	A	
	3,0		2,0	HDJA	2,0	J	
	3,0		2,0	H	3,0		
	2,0	A	2,0	FH	2,0	J	
	3,0		3;2	J	2,0	I	
	3,0		2,0	H	2,0	I	

Relatórios trimestrais: apresentação e discussão dos resultados

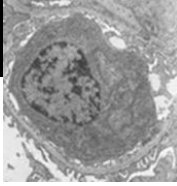


Resultados



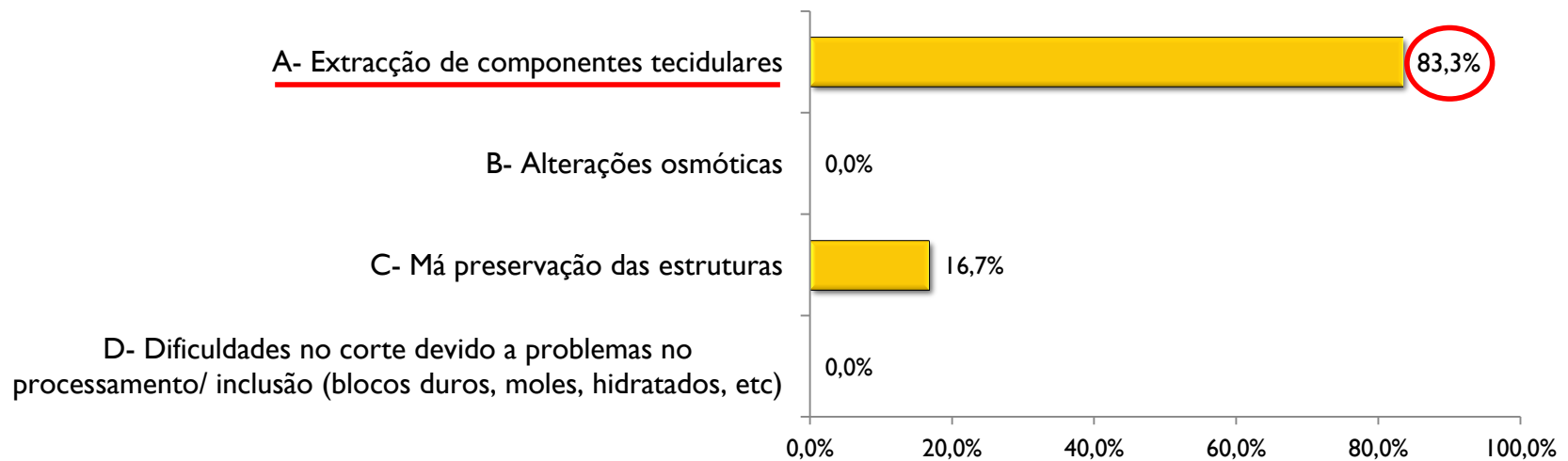
Maior parte dos artefactos registados sem impacto no estudo das amostras

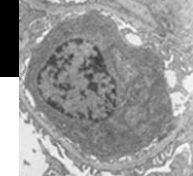
Artefactos: oportunidades de melhoria



Artefactos...

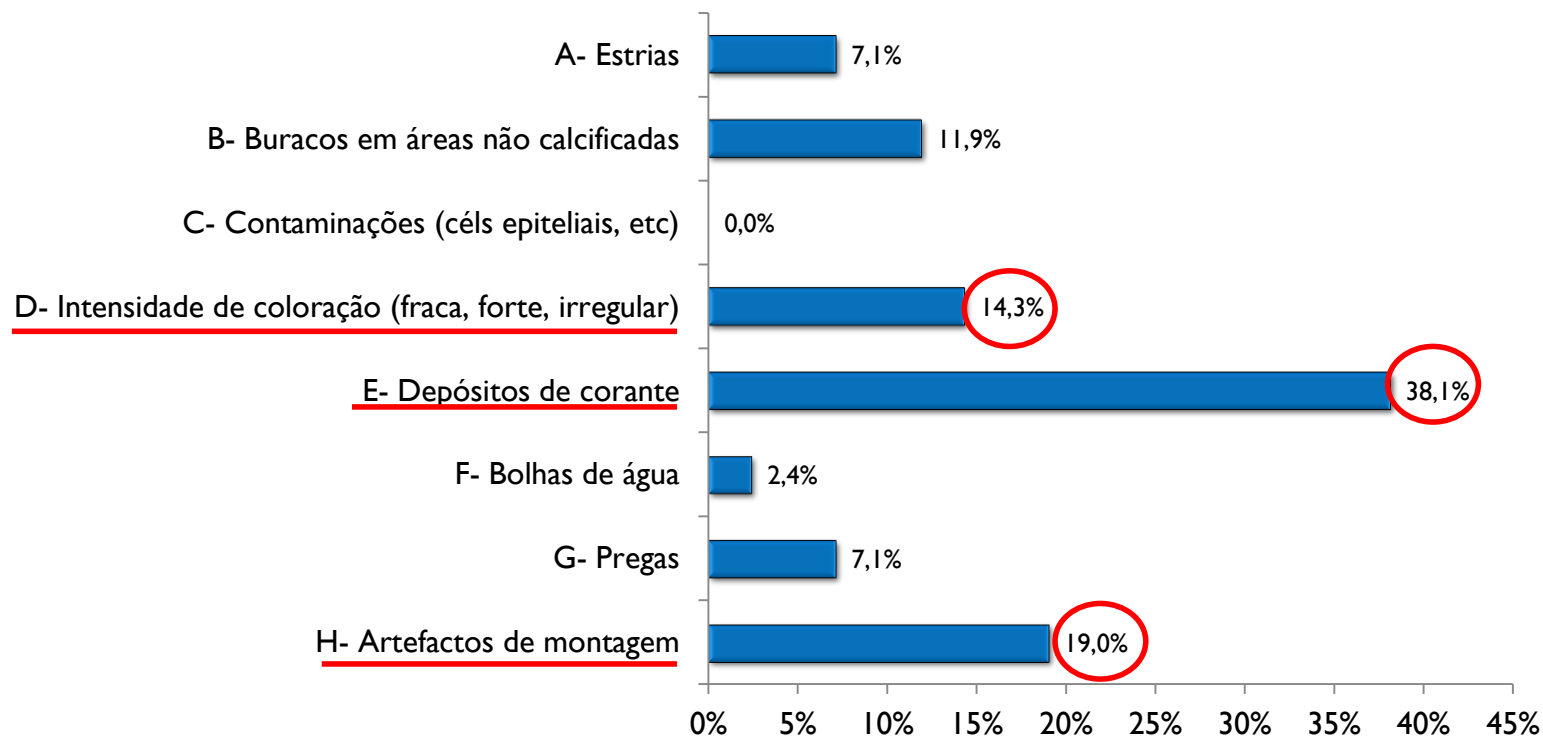
Processamento

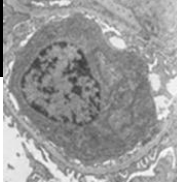




Artefactos...

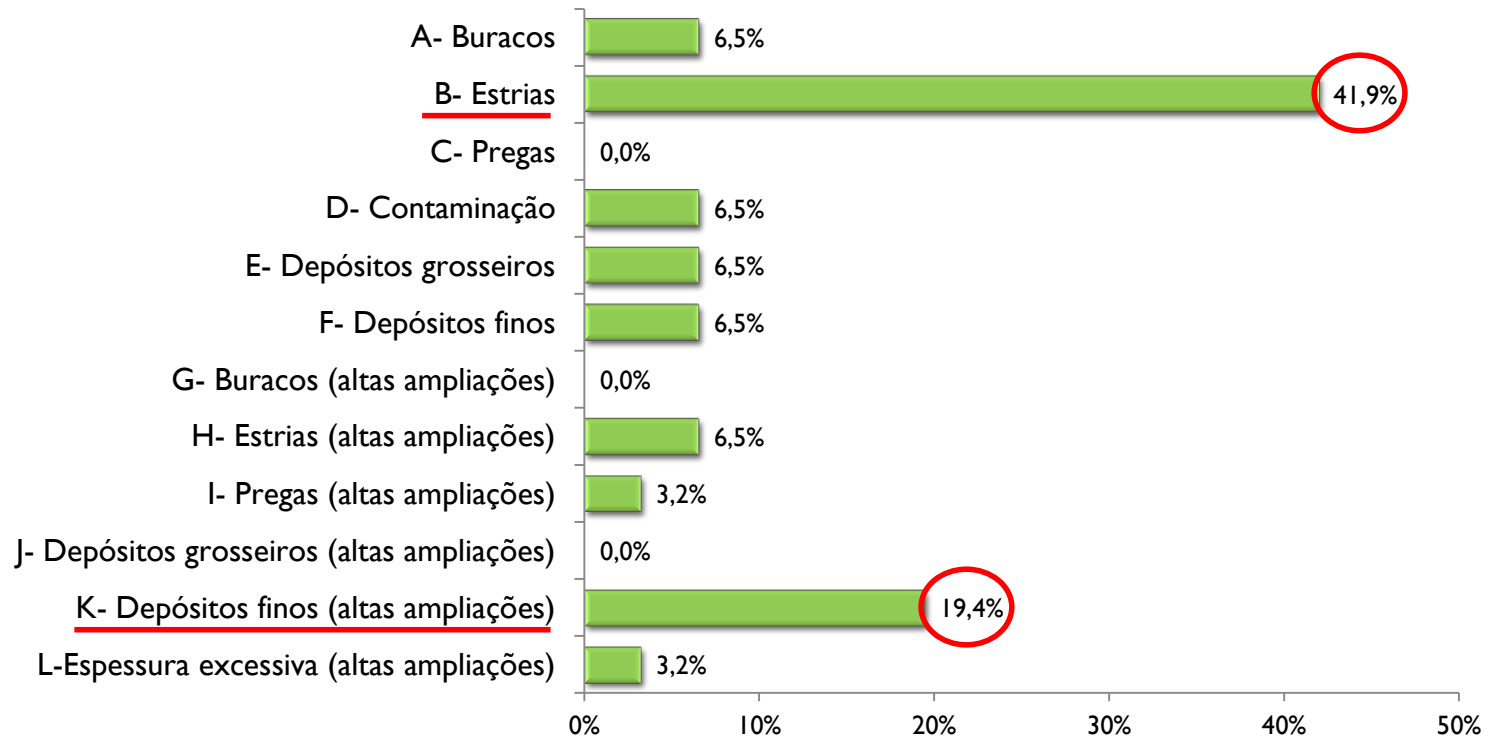
Corte e Coloração de Semi-finos

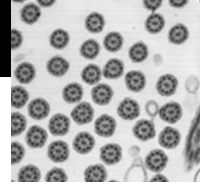




Artefactos...

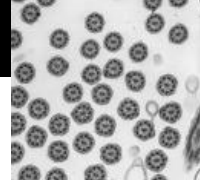
Corte e Contraste de Ultra-finos





Conclusões

- **Indicador de qualidade da área de Microscopia Electrónica cumprindo os requisitos dos processos de certificação/acreditação.**
- **Identificação dos problemas / artefactos mais comuns e contribuição na sua resolução / minimização**



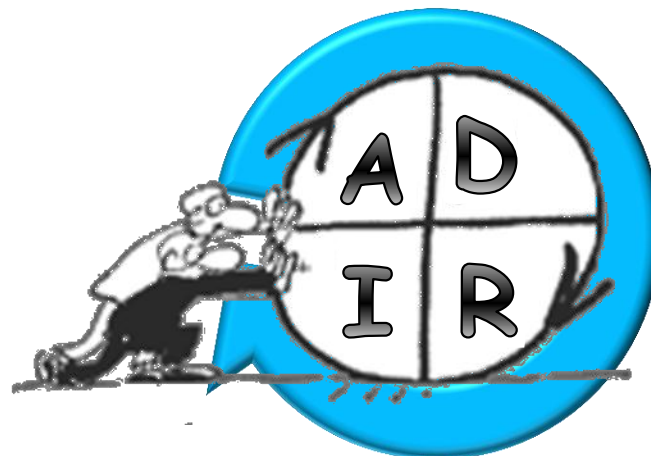
- Apresentação de modo sistemático e periódico de resultados em relatórios trimestrais:

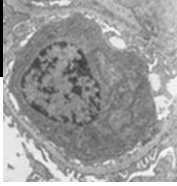


- Facilitou o estudo da origem dos problemas e contribuiu para os eliminar ou minimizar.

- Relatórios:

- ✓ Análise,
- ✓ Discussão,
- ✓ Resolução de problemas,
- ✓ Implementação melhorias



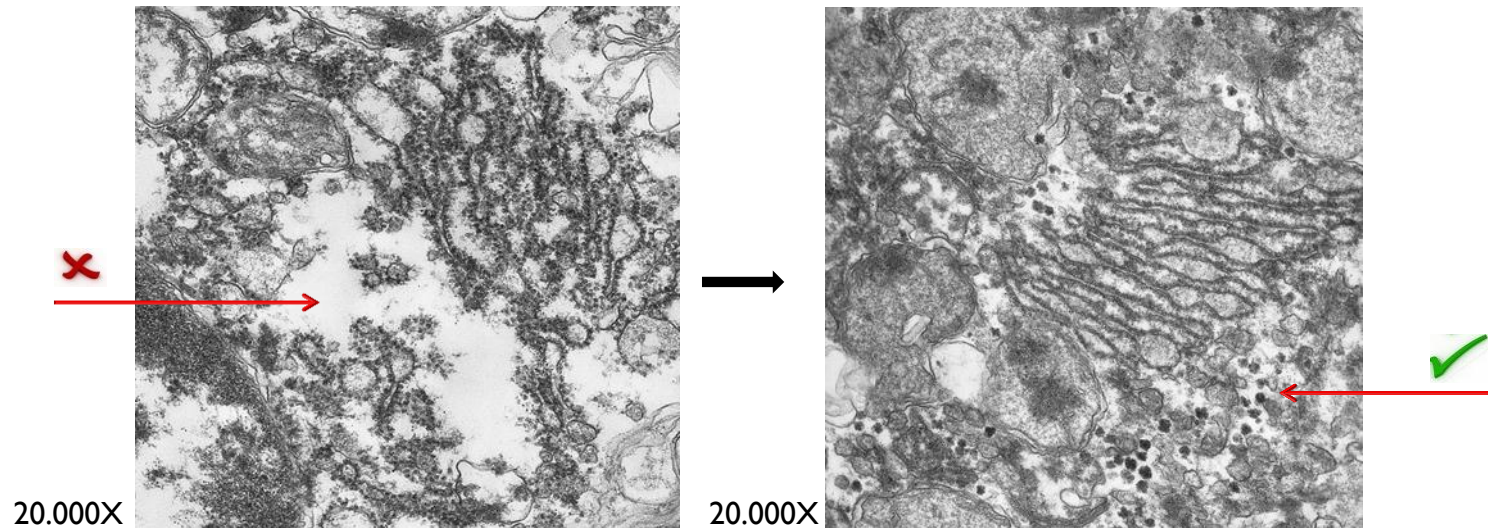


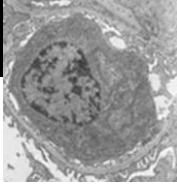
Processamento: “extracção de componentes tecidulares”



Protocolo para melhor preservação do glicogénio

Protocolo para amostras para estudo de cílios



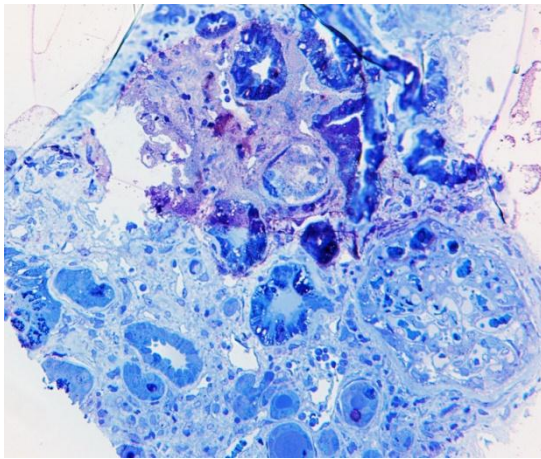


Corte e coloração de semi-finos: “intensidade da coloração”,
“depósitos de corante”

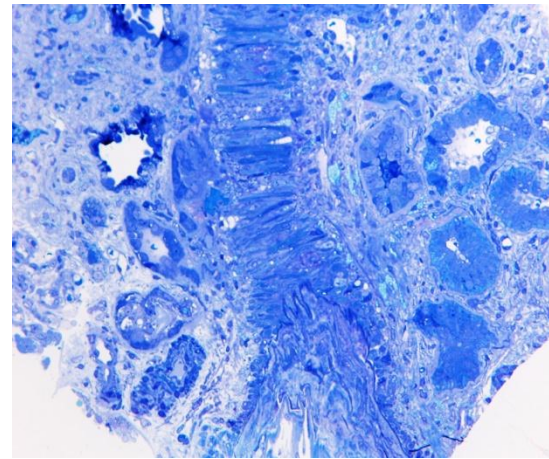


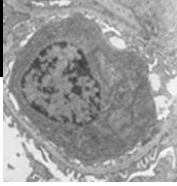
Alterações preparação de soluções e protocolo de coloração

10X



10X





Corte e contraste de ultra-finos:

“depósitos finos”



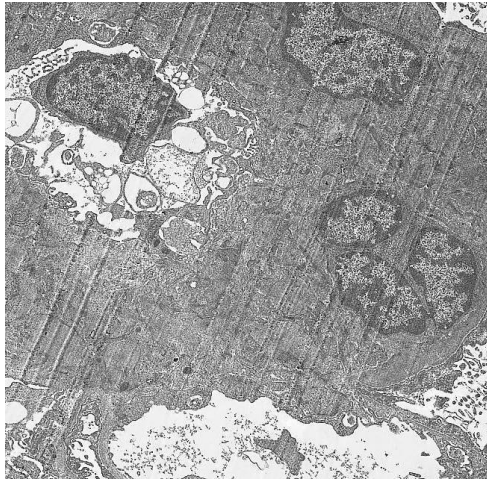
- Alterações protocolo de processamento
- Novos protocolos para contraste

“estrias”

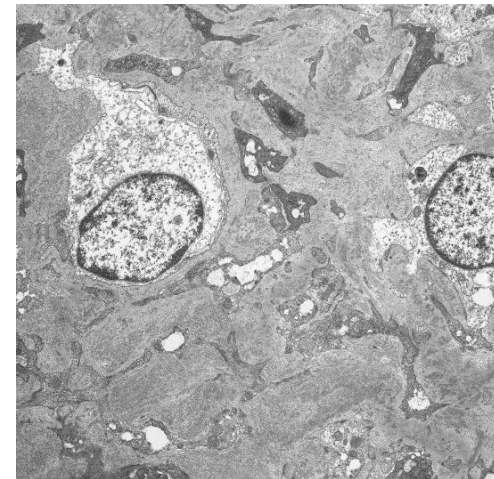


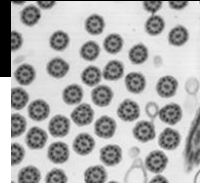
- Compra de faca de diamante

4000X



4000X

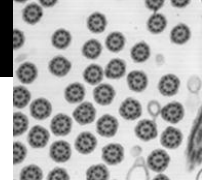




Realização em conjunto por médicos e técnicos...



**Trabalho conjunto na resolução de problemas e
melhoria dos procedimentos**



Construção...

Método de controlo de qualidade:

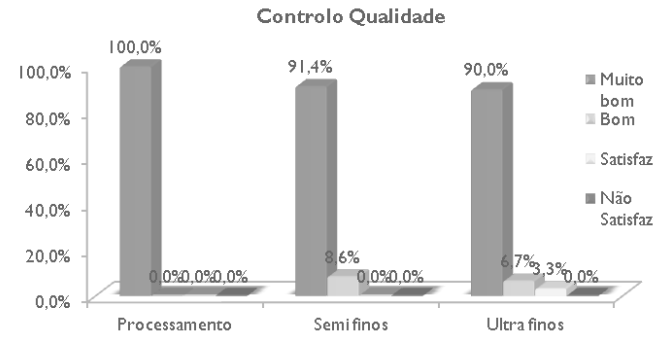
Processo contínuo → melhorar e agilizar método

Actualmente: alteração na correspondência entre valores obtidos e classificação qualitativa



Maior distribuição dos resultados pelos intervalos qualitativos

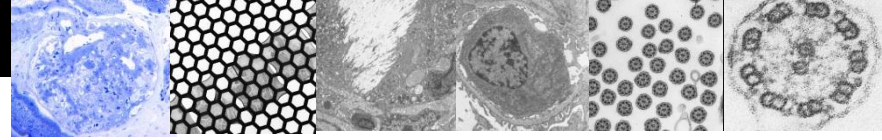
Método apresentado:	Método actual:																
<table border="1"> <tr> <td>$\geq 2,8$</td> <td>Muito Bom</td> </tr> <tr> <td>$< 2,8$ e $\geq 2,5$</td> <td>Bom</td> </tr> <tr> <td>$< 2,5$ - ≥ 2</td> <td>Satisfaz</td> </tr> <tr> <td>< 2</td> <td>Não Satisfaz</td> </tr> </table>	$\geq 2,8$	Muito Bom	$< 2,8$ e $\geq 2,5$	Bom	$< 2,5$ - ≥ 2	Satisfaz	< 2	Não Satisfaz	<table border="1"> <tr> <td>$> 2,8$</td> <td>Muito Bom</td> </tr> <tr> <td>$\leq 2,8$ e $> 2,5$</td> <td>Bom</td> </tr> <tr> <td>$\leq 2,5$ - > 2</td> <td>Satisfaz</td> </tr> <tr> <td>≤ 2</td> <td>Não Satisfaz</td> </tr> </table>	$> 2,8$	Muito Bom	$\leq 2,8$ e $> 2,5$	Bom	$\leq 2,5$ - > 2	Satisfaz	≤ 2	Não Satisfaz
$\geq 2,8$	Muito Bom																
$< 2,8$ e $\geq 2,5$	Bom																
$< 2,5$ - ≥ 2	Satisfaz																
< 2	Não Satisfaz																
$> 2,8$	Muito Bom																
$\leq 2,8$ e $> 2,5$	Bom																
$\leq 2,5$ - > 2	Satisfaz																
≤ 2	Não Satisfaz																





Referências bibliográficas

Stirling, J.W. & Curry, A. (2007). *Quality Standards for Diagnostic Electron Microscopy. Ultrastructural Pathology*, 31:365-367, 2007



Agradecimentos



Ao Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Prof. Dr. Fernando Fonseca...

...em especial ao Dr. Samuel Aparício com quem é uma honra e prazer trabalhar...

