



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  
3º del 2005

**Antígeno probado:** CITOQUERATINA DE ALTO PESO MOLECULAR

**Tejido probado:** Próstata (Hiperplasia nodular)

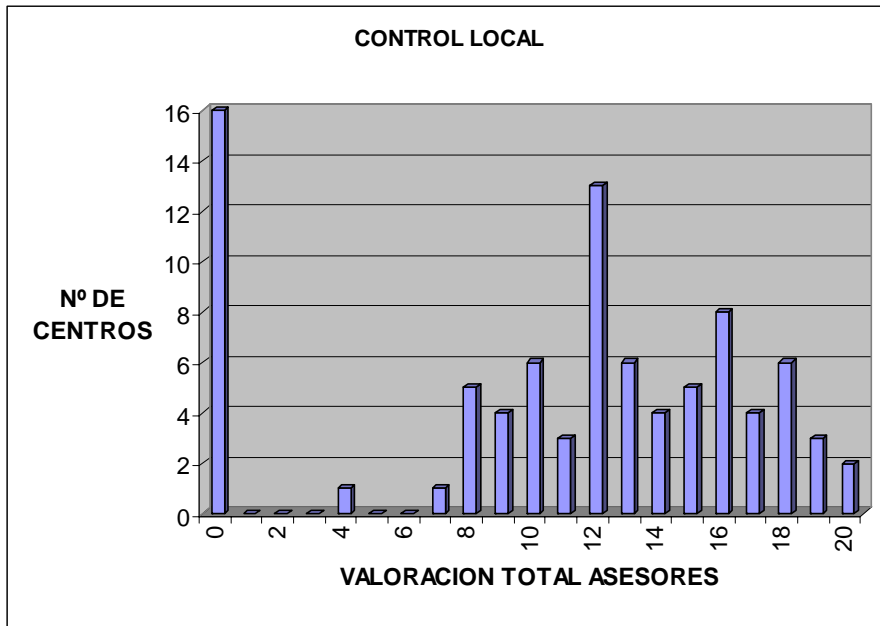
**Instrucciones:** Los participantes fueron invitados a teñir con CKHW la preparación remitida por el programa (próstata con hiperplasia nodular fijada en formol al 10%, pH 7 durante 24 horas) y su propia preparación control, devolviendo ambas preparaciones para su evaluación.

**Número de laboratorios participantes:**

- Remitidos: 87
- Contestados totales: 71, 81.6% (GCP) y (Control Local)

**1.-Estudio de los controles de locales cada centro:**

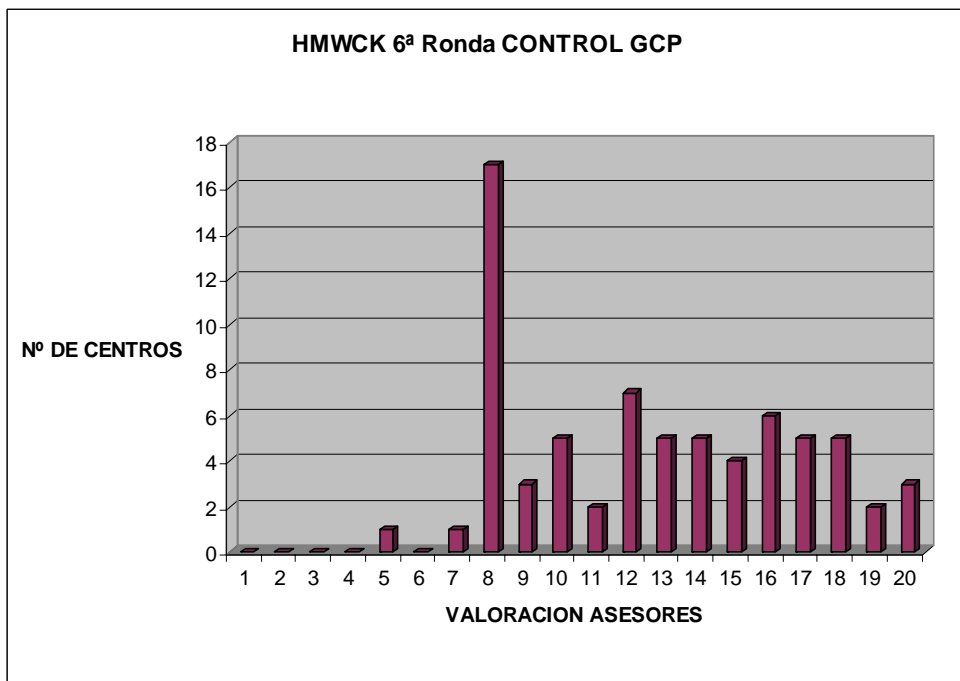
Los resultados de la evaluación fueron los siguientes:



Considerando que una puntuación superior a 12 se considera aceptable

- el 71.8 % de las preparaciones remitidas se consideraron como aceptables.
- con un 32.4 % con una puntuación igual o superior a 16/20, consideradas como óptimas o cercanas.
- El 2.8 % de valoración excelente.

**2.-Estudio de los controles remitidos por el programa GCP:**



La participación global ha sido de un 81.6%.

Considerando que una puntuación superior a 12 se considera aceptable,

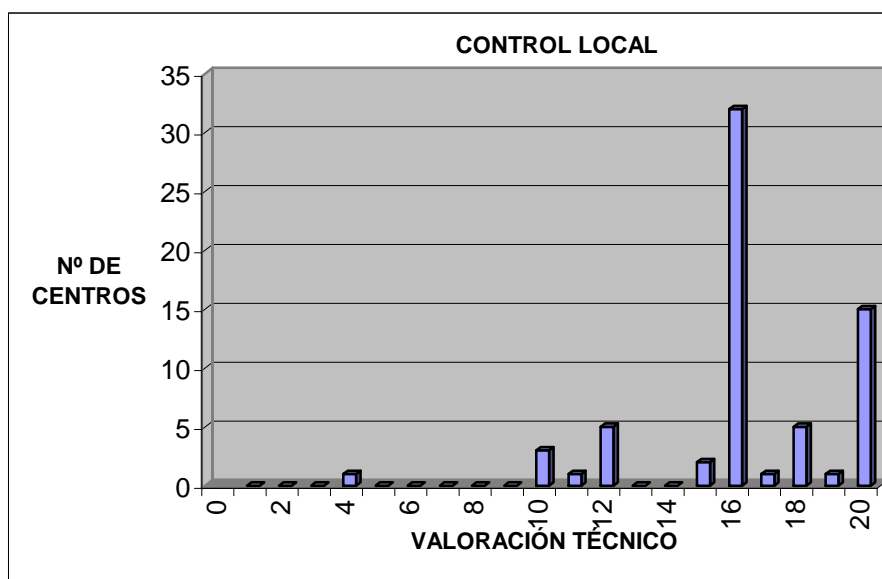
- El 59.1% globales de las preparaciones remitidas se consideraron aceptables
- Un 29.6 % globales obtuvieron una puntuación igual o superior a 16, consideradas como óptimas
- El 4% globales obtuvieron una valoración excelente.

**3.-Resultados de la autoevaluación:** Como se indica en las instrucciones remitidas, la autoevaluación es una parte importante del programa de Garantía de Calidad.

Los resultados obtenidos son los siguientes:

### 3.a.-Control Local

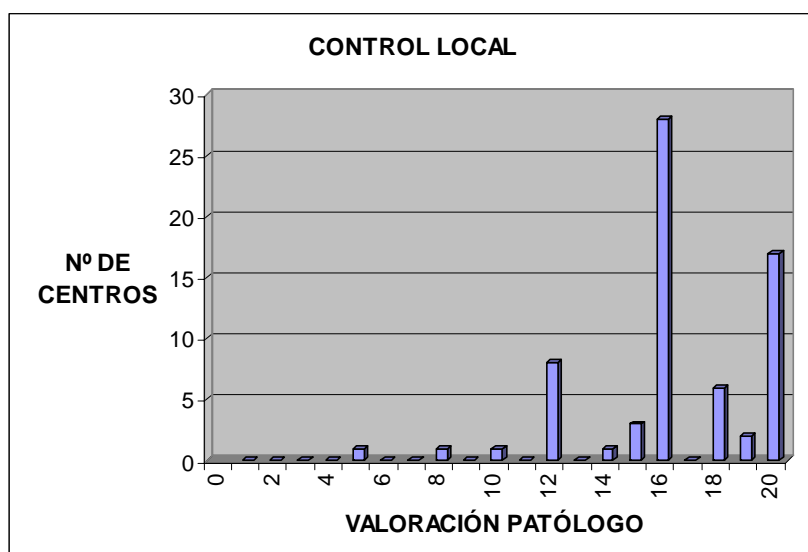
#### 3.a.1.-Resultados de la AUTOEVALUACIÓN de los técnicos:



En lo referente al porcentaje de respuesta de la AUTOEVALUACION, fue del **93%** de los técnicos en el análisis global.

- Valores superiores a 12: 92.4%
- Valor igual o superior a 16: el 77%

### 3.a.2.-Resultados de la AUTOEVALUACIÓN de los patólogos



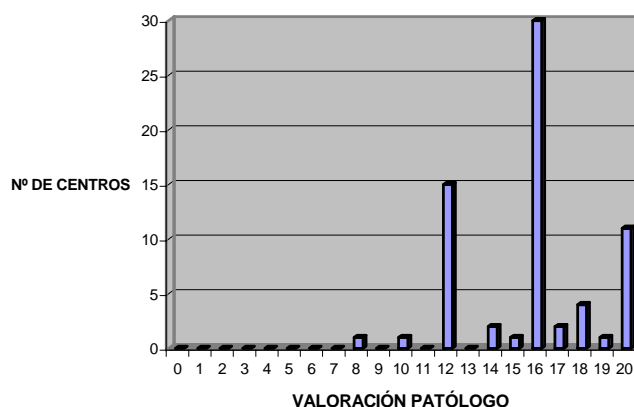
- Participación global de un 96%
- Mayor de 12: 95.6%
- Mayor de 16: 78%

Como se puede observar en los gráficos, la percepción local sobre los resultados de la técnica es muy superior a la valoración de los observadores externos. Parece evidente la tendencia a sobrevalorar los resultados de la técnica por lo que se aconseja revisar los protocolos y ajustar en la medida de los posible el/los mejores protocolos (valoración 20) que nos permitan mejorar a técnica y como consecuencia nuestros resultados .

### 3.b.- Resultados de la AUTOEVALUACIÓN: Control del GCP

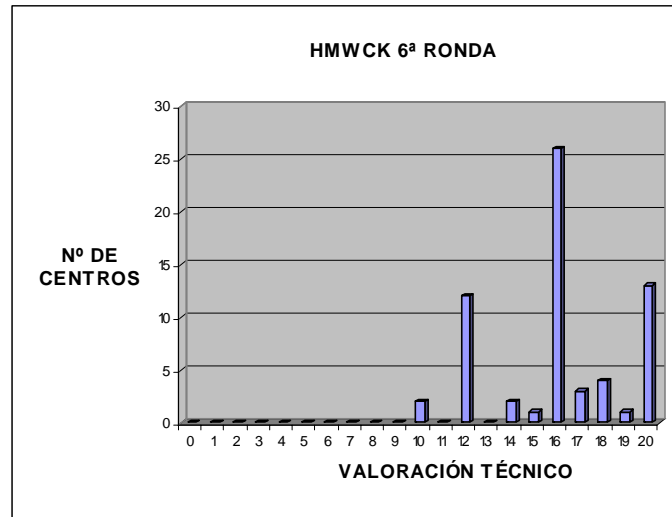
#### 3.b.1.- AUTOEVALUACIÓN de los patólogos

HMWCK 6ª RONDA



- Participación: 95.7%
- Valores superiores a 12: 97%
- Valores superiores a 16: 70%
- Valor de 20: 16%

### 3.b.2.-AUTOEVALUACIÓN de los técnicos



- Participación: 90%
- Valores superiores a 12: 97%
- Valores superiores a 16: 73.4%

Los resultados son similares al control local, observándose una notable discrepancia con las valoraciones de los asesores externos.

### 4.-Controles utilizados como control positivo/ Nº de Centros

➤ Hiperplasia de próstata:	55
➤ Adenocarcinoma de próstata:	6
➤ Piel:	5
➤ Queratoacantoma:	1
➤ Ca. epidermoide:	1
➤ Apéndice :	1
➤ Amígdala :	1

### 5.-Anticuerpos utilizados/ Nº de Centros

➤ 34BE12 DakoCytomation:	48
➤ 34BE12 Novocastra:	4
➤ 34BE12 Biomeda:	1

- 34BE12 Master Diagnostica: 14
- 34BE12 Biogenex: 2
- 34BE12 Zymed: 1
- AE1/AE3 DakoCytomation: 1
- LP34 DakoCytomation: 1

## 6.-Sistemas de Visualización Utilizados / N° de Centros

- EnVision DakoCytomation: 22
- LSAB DakoCytomation : 27
- LSAB Master Diagnóstica : 6
- LAB Ventana : 6
- ABC Biomeda: 1
- ABC Novocastra: 1
- ABC VECTOR: 1
- Novolink Novocastra: 2
- MASVISION UNIVERSAL Master Diagnostica: 3
- PAP DakoCytomation: 1

## 7.- Breves notas sobre Las queratinas:

Son el principal componente del citoesqueleto de las células epiteliales. Se han identificado un total de 20 subunidades de queratinas en los diferentes tejidos epiteliales, y se clasifican en queratinas de alto y bajo peso molecular y en formas ácidas (tipo I) y básicas (tipo II) según su punto isoeléctrico (tabla 1). Actualmente hay disponibles en el mercado anticuerpos monoclonales de alta calidad frente a cada una de estas 20 queratinas, sin embargo existe un uso bastante extendido de cócteles de queratinas que incluyen anticuerpos frente a distintas subunidades. Estos cócteles están diseñados para encontrar una reactividad positiva en la gran mayoría de tejidos epiteliales y neoplasias de origen epitelial (carcinomas). (tabla 2).

Keratin names by Moll	Chromosomal localization	Mol. wt ( $\times 10^{-3}$ )	Type of IF	PI
K1	12	67	II	7.8
K2	12	65	II	6.1
K3	12	64	II	7.5
K4	12	59	II	7.3
K5	12	58	II	7.4
K6	12	56	II	7.8
K7	12	54	II	6.0
K8	12	52	II	6.1
K9	17	64	II	5.4
K10	17	56.5	I	5.3
K11	17	56	I	5.3
K12	17	55	I	4.9
K13	17	51	I	5.1
K14	17	50	I	5.3
K15	17	50	I	4.9
K16	17	48	I	5.1
K17	17	46	I	5.1
K18	17	45	I	5.7
K19	17	40	I	5.2
K20	17	46	I	5.7

IF, Intermediate filament; PI, isoelectric point.

Tabla 1. Características moleculares de las queratinas.

<i>Cóctel</i>	<i>Queratinas</i>
Clon AE1	10, 15, 16, 19 (tipo I)
Clon AE3	1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 (tipo II)
CAM5.2	8, 18
34 $\beta$ E12	1, 5, 10, 14
Clon LP34	5, 6, 8, 17, 19
Anti-citoqueratina 5/6	5 y 6
Pan-citoqueratina	5, 6, 8, 18

Tabla 2. Diferentes cócteles de queratinas disponibles en el mercado.

Una de las queratinas de alto peso molecular cuyo uso ha sido de utilidad en el cáncer de próstata es la 34BetaE12, conocida desde 1985 que demuestra una tinción continua de las células periacinares y que se fragmenta en las hiperplasias atípicas, en casos de neoplasia intraepitelial prostática y ,por supuesto, en el adenocarcinoma .

### 7.-Inmunotinción óptima:

Las citoqueratinas pertenecen a la categoría de filamentos intermedios y por tanto la expresión se ha de localizar en el citoplasma.

Se consideró una inmunotinción óptima la que mostraba:

- Positividad en células basales, con ausencia de inmunoreactividad en las células estromales y del epitelio acinar. La expresión en las células

básales de las glándulas atróficas de la próstata puede ser fragmentada o incluso ausente.

- La expresión en hiperplasia post-atrónica puede observarse como una inmunotinción continua en las células basales de la mayoría de las glándulas.
- En Hiperplasias adenomatosas atípicas, la citoqueratina de alto peso puede demostrar alguna/s células residuales basales
- En PIN de alto grado: se debe observar pérdida progresiva de la expresión en las células de la capa basal. Manteniéndose la expresión intacta en glándulas benignas, y expresión fragmentada en PIN de alto grado. Con ausencia de expresión en adenocarcinomas.

**La expresión debe ir acompañada de:**

- ✓ 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.

**8.-Mejores métodos** (puntuación de 20/20 en las preparaciones del GCP):

1. Método: Novolink

Bloqueo: Agua oxigenada y Caseína

Automatización: No

Digestión enzimática: Sí, Proteinasa K de DAKO, 15 minutos a t<sup>a</sup> ambiente

Anticuerpo primario: DakoCytomation, clon 34BE12, dilución 1/50 durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Cromógeno: DAB (datos sin completar)

2. Método: LSAB de DakoCytomation

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: TM 500 de DakoCytomation



Recuperación antigénica: por calor en olla a presión con Tampón Citrato 10mM pH 6.5, 2 minutos

Anticuerpo primario: DakoCytomation, clon 34BE12, dilución 1/50 durante 40 minutos a temperatura ambiente.

Cromógeno: DAB de Dakocytomation, 7.5 minutos a t<sup>a</sup> ambiente

3. Método: EnVision de DakoCytomation

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: Autostainer de Dakocytomation

Recuperación antigénica: por calor en olla a presión con Tampón EDTA 1mM pH 8, 3 minutos

Anticuerpo primario: DAKO, clon 34BE12, prediluido durante 10 minutos a temperatura ambiente.

Cromógeno: DAB de Dakocytomation, 10 minutos a t<sup>a</sup> ambiente

**9.-Comentarios:** Se ha observado un porcentaje apreciable con deficiencias técnicas, que podrían ocasionar falsos resultados en la aplicación de la técnica a lesiones neoplásicas de forma rutinaria. Al igual que con los otros antígenos probados, pero con mayor importancia, es la recomendación de emplear como control **tejido no neoplásico**, fijado en condiciones conocidas y controladas.

Los principales problemas detectados han sido por una parte una alta frecuencia de pretratamiento excesivo (sobrecalentamiento, pH inadecuado) de forma generalizada, y específicamente en los casos con puntuación inferior a 16/20 una intensidad de la tinción o un número de células teñidas 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). El contraste con los resultados de los controles locales, pone, una vez más, de manifiesto la influencia del procesamiento previo del tejido control utilizado, que es el factor diferente en ambos casos y probablemente responsable de las discrepancias.

Los resultados recogidos aconsejan la revisión de los protocolos para una mejor optimización de la técnica.

## 10. - Bibliografia

- ✓ Branner MK, Peehl DM, Stamey TA, Bostwick DC. Keratin immunoreactivity in the benign and neoplastic human prostate. *Cancer Res* 1985, 45: 3663 - 3367.
- ✓ Varma M, Jasani B. Diagnostic utility of immunohistochemistry in morphologically difficult prostate cancer: review of current literature. *Histopathology*. 2005 Jul;47(1):1-16.
- ✓ Lerwill MF. Current practical applications of diagnostic immunohistochemistry in breast pathology. *Am J Surg Pathol*. 2004 Aug;28(8):1076-91.
- ✓ Epstein JL. Diagnosis and reporting of limited adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy. *Mod Pathol*. 2004 Mar; 17(3):307-15.
- ✓ Gurbuz Y, Ozkara SK. Clear cell carcinoma of the breast with solid papillary pattern: a case report with immunohistochemical profile. *J Clin Pathol*. 2003 Jul;56(7):552-4.
- ✓ Raphael SJ. The meanings of markers: ancillary techniques in diagnosis of thyroid neoplasia. *Endocr Pathol*. 2002 Winter;13(4):301-11.
- ✓ Kunze E, Francksen B. Histogenesis of nonurothelial carcinomas of the urinary bladder from pre-existent transitional cell carcinomas. A histopathological and immunohistochemical study. *Urol Res*. 2002 Mar;30(1):66-78.
- ✓ Gown AM. Immunohistochemical determination of primary sites of carcinomas. *J Histochem* 1999;22:209-215.
- ✓ Moll R. Cytokeratins as markers of differentiation I the diagnosis of epithelial tumors: *Subcell Biochem* 1998;31:295-262
- ✓ Shah KD, Tabibzadeh SS, Gerber MA. Comparison of cytokeratin expression in primary and metastatic carcinomas: Diagnostic application in surgical pathology. *Am J, Clin Pathol* 1987;87:708-715