



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 nº 8

Antígeno probada: Citoqueratina 20 (CK20)

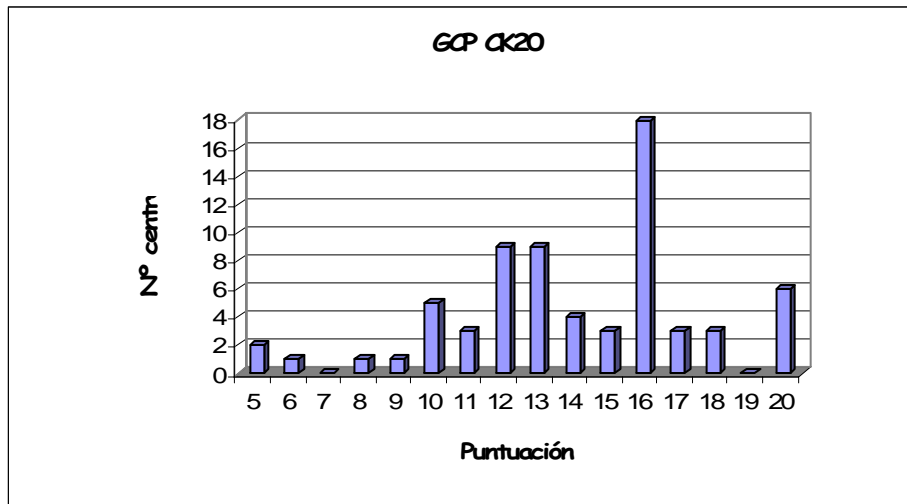
Tejido probado: **SEAP-GCP** - Apéndice
LOCAL - Variable

Instrucciones: Los participantes fueron invitados a teñir con Citoqueratina 20 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:

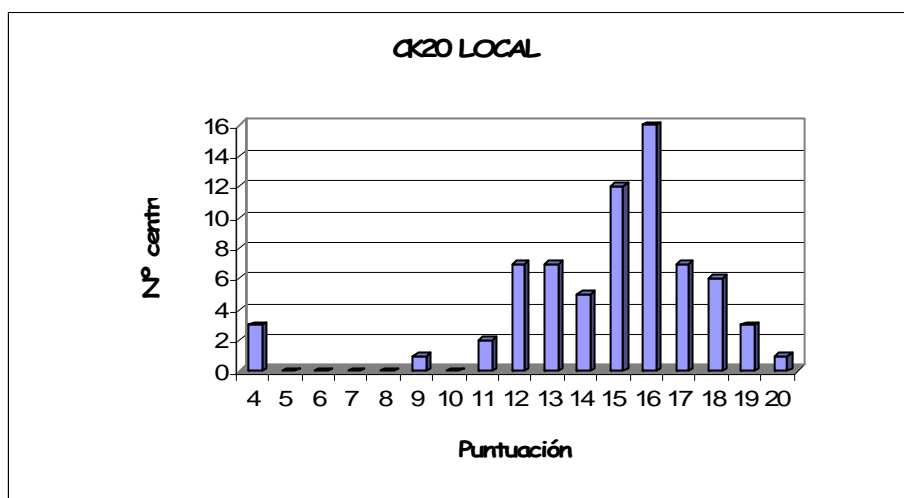
- **Remitidos:** 94
- **Contestados:** 68 (72,3%) GCP y 70 (74,5%) Control Local

Estudio de los controles remitidos por el programa GCP: Los resultados de la evaluación fueron los siguientes



Considerando que una puntuación igual o superior a 12/20 se considera aceptable, el 81% de las preparaciones remitidas se consideraron aceptables. El 36,8% de los centros obtuvo una puntuación entre 12 y 15, considerada aceptable, pero no excelente. Un 44% obtuvo puntuación igual o superior a 16/20, considerada como óptima o cercana. El 8,8% alcanzan la máxima puntuación 20/20. Un 19% de los centros participantes no alcanza el nivel mínimo para considerar que la técnica puede aplicarse de manera rutinaria. El principal problema detectado ha sido una intensidad de la tinción o un número de células teñidas inferior al esperado. Otro problema detectado con frecuencia ha sido el artefacto en el tejido debido a excesivo pretratamiento con calor. Menos frecuentes han sido la tinción inespecífica y la tinción de fondo.

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



Considerando que una puntuación igual o superior a 12/20 se considera aceptable, el 91,4% de las preparaciones remitidas se consideraron aceptables. El 44,3% de los centros obtuvo una puntuación entre 12 y 15, considerada aceptable, pero no excelente. Un 47,1% obtuvo puntuación igual o superior a 16/20, considerada como óptima o cercana. Un centro alcanzó la máxima puntuación 20/20. Un 8,6% de los centros participantes no alcanza el nivel mínimo para considerar que la técnica puede aplicarse de manera rutinaria. Como en los controles del GCP, el principal problema detectado ha sido una intensidad de la tinción o un número de células teñidas inferior al esperado. Otro problema detectado con frecuencia ha sido el artefacto en el tejido debido a excesivo pretratamiento con calor. En alguna ocasión, el control local seleccionado no fue el adecuado para la demostración del antígeno.

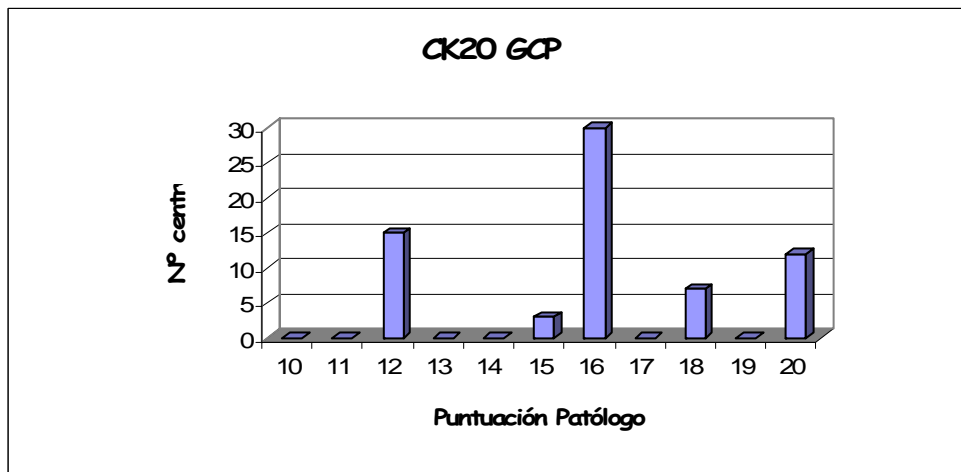
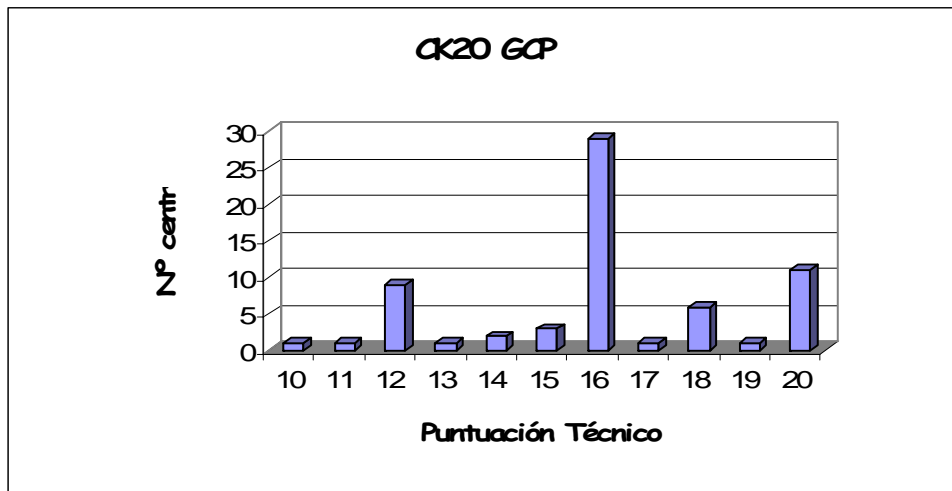
Los controles locales remitidos fueron

- Colon: 31 (9 especificados como adenocarcinoma)
- Apéndice: 24
- Metástasis de adenocarcinoma de colon en otros tejidos: 5
- Intestino delgado: 3
- Otros o no se indicó: 7

Resultados de la autoevaluación:

El 90% de los técnicos y el 95,7% de los patólogos participantes remitieron su valoración de los controles locales y el 95,6% y el 98,5% respectivamente del control del GCP. Los resultados obtenidos en esta ronda son los siguientes

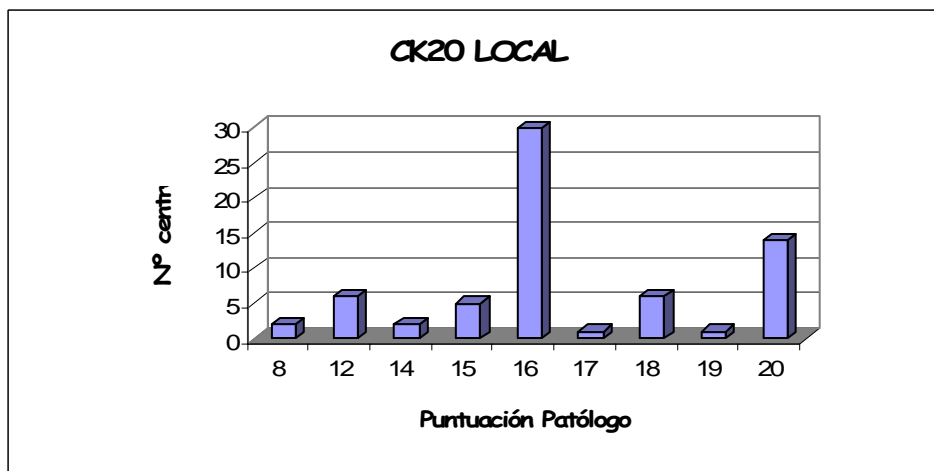
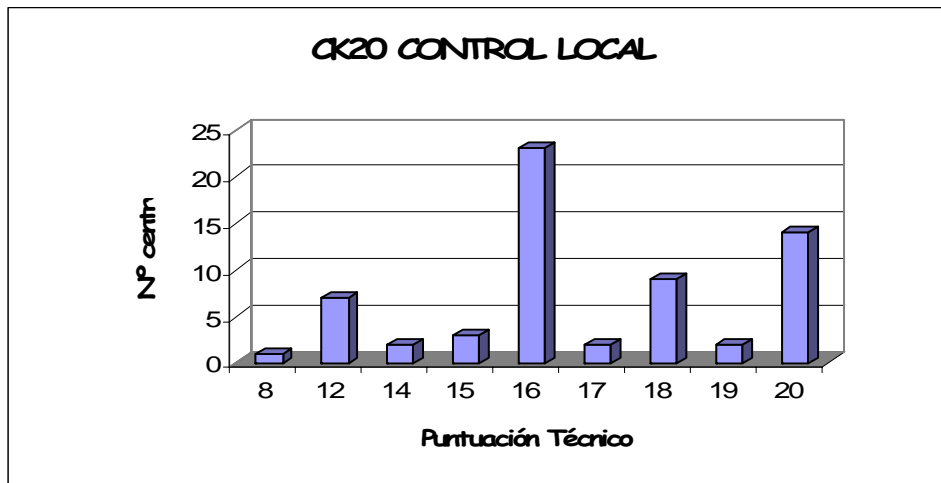
Control del GCP



Como se puede observar en los gráficos, la percepción local sobre los resultados de la técnica es superior a la valoración de los observadores externos. Para los técnicos participantes, el 74% de los casos tenía una puntuación igual o superior a 16/20. En el caso de los patólogos el porcentaje

era del 73%. En ambos casos las cifras de la autoevaluación son claramente superiores a las de los observadores externos (44%).

Control Local



Los resultados son similares a los del control GCP. Los casos con puntuación igual o superior a 16/20 eran el 79,4% para los técnicos y el 73% para los patólogos. Sigue observándose una notable discrepancia con la valoración de los observadores externos (47,1%).

Inmunotinción óptima: Se consideró como inmunotinción óptima la que mostraba expresión citoplasmática en el epitelio glandular, intensa y difusa, al

menos en la mitad más superficial de las glándulas, así como en las células neuroendocrinas aisladas, 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) como de técnica histológica (contraste adecuado, ausencia de hidratación). Los criterios generales de puntuación empleados son los reflejados en las hojas de resultados individuales remitidas.

Anticuerpos y métodos evaluados:

Anticuerpos primarios: Todos los laboratorios que lo especificaron usaron el clon Ks20.8:

Dako	42
Novocastra	11
Master Diagnostica	10
Zymed	2
Biomeda	1
BD	1

Mejores métodos: 20/20 en las preparaciones del GCP o locales.

Automatización: TechMate 500
Horizon
Autostainer Plus
Bond Max
Iview

Método: EnVision Dako, 30 minutos
ABC Streptavidina Dako, 30 minutos
Novolink
Iview

Bloqueo: Agua oxigenada.

Digestión enzimática: Dos laboratorios usaron Proteinasa K, 7-10 minutos, previa a la recuperación antigénica con calor. Otro centro usó Proteasa 1 de Ventana sin recuperación con calor.

Recuperación antigénica con calor: Olla a presión
Autoclave
PT Vitro

Tampón y pH: Citrato pH 6-6,5 en olla a presión, 2-5 minutos.

EDTA pH 8, en PT Vitro, 20 minutos.

Anticuerpo primario: Dako N1627, dilución 1:2, 20 minutos.

Dako M7019, diluciones 1:20, 1:25, 1:50, 30 minutos.

Novocastra RTUCK20, prediluido, 15-30 minutos.

DB POM049, prediluido, 32 minutos.

Cromógeno: DAB

Comentarios

No se observa una gran discrepancia en los resultados según se analicen los controles locales o el control del GCP. La mayoría de los resultados son adecuados para su utilización rutinaria. Sin embargo, un alto porcentaje de los casos presentaba intensidad de tinción insuficiente o degradación del tejido por excesivo pretratamiento con calor.

Todos los laboratorios que lo especificaron usaron el clon Ks20.8 de CK20, obteniendo buenos resultados con pretratamiento con calor. Algunos centros realizaron pretratamiento enzimático previo a la recuperación antigénica con calor, obteniendo buenos resultados. En alguna ocasión, el control local seleccionado no fue el adecuado para el antígeno a demostrar.

Las citoqueratinas (CK) pertenecen al grupo de proteínas denominado filamentos intermedios. Se han identificado 20 polipéptidos de CK diferentes en distintas células epiteliales humanas. La CK20 es una proteína de 46 kDa perteneciente al tipo ácido A (clase I). Se encuentra en las células superficiales del epitelio transicional y sobre todo en el epitelio simple de las foveolas gástricas e intestino, así como en células neuroendocrinas. Es típico el patrón de expresión de CK20 en las células de Merkel de la piel. En la inmensa mayoría de los adenocarcinomas colorectales la CK20 se expresa en más de la mitad de las células, distribuyéndose de forma irregular. Los carcinomas de células de Merkel mantienen la expresión de CK20.

El control externo recomendado es un apéndice sin patología, fijado en formol tamponado durante 24 horas como máximo. En caso de usar adenocarcinoma de colon como control externo, se recomienda que la biopsia contenga también colon normal para evitar los errores que podrían derivarse del patrón de expresión típicamente irregular de la mayoría de los adenocarcinomas.