



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



GARANTIA DE CALIDAD
Programa de
Garantía de Calidad
en Patología

Módulo de Mama

Ronda Nº 1

Antígeno probado: Receptor de Estrógenos

Tejido probado: Carcinoma de mama

Instrucciones: Los participantes fueron invitados a teñir con Receptor de Estrógenos la preparación remitida por el programa (carcinoma de mama fijado en formol al 10%, pH 7 durante 24 horas) además de su propio control, devolviendo ambas preparaciones para su evaluación.

Número de laboratorios participantes:

- Remitidos: 77
- Contestados: 69

Guía utilizada para la evaluación: Cada uno de los cuatro expertos concedieron una puntuación entre 0 y 5, lo que daba una puntuación entre 0 y 20 puntos. La puntuación fue como sigue:

PUNTUACION	PATRON DE TINCION
0	No remisión de portas
1-2	Señal nuclear menor de lo esperado, tanto en nº de células como en intensidad
3	Tinción esperada aunque focal
4-5	Intensa señal nuclear

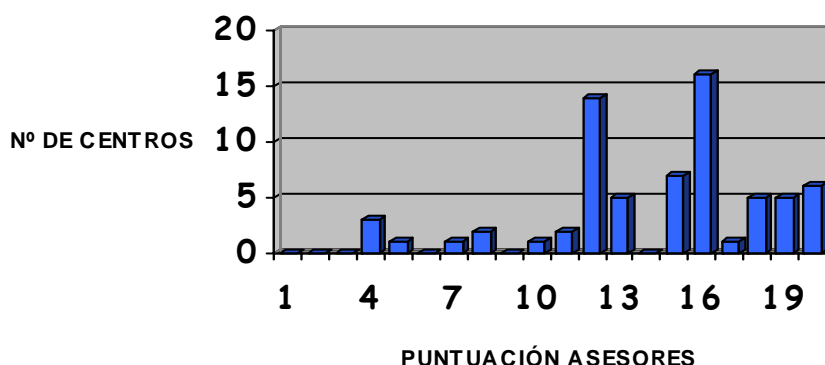
Otras variables tenidas en cuenta han sido:

- ❑ Ausencia de fondo
- ❑ Ausencia de señal inespecífica
- ❑ Calidad global de la técnica (ausencia de burbujas y pliegues)
- ❑ Ausencia de efecto borde
- ❑ Buena contratinción
- ❑ Óptima preservación del tejido

Inmunotinción óptima: Se ha considerado una buena técnica cuando se puede observar:

1. Intensa y bien definida señal nuclear en las células de las glándulas normales y células tumorales del control aportado por el PGCP.
2. Ausencia de tinción citoplasmática o mínima señal
3. Adecuada relación en la intensidad de la tinción con respecto a la contratinción o contraste empleado.
4. Ausencia de tinción de fondo o señal inespecífica
5. 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.

1.- Gráfica correspondiente a las valoraciones globales de los asesores en el Control del GCP para Receptor de Estrógenos



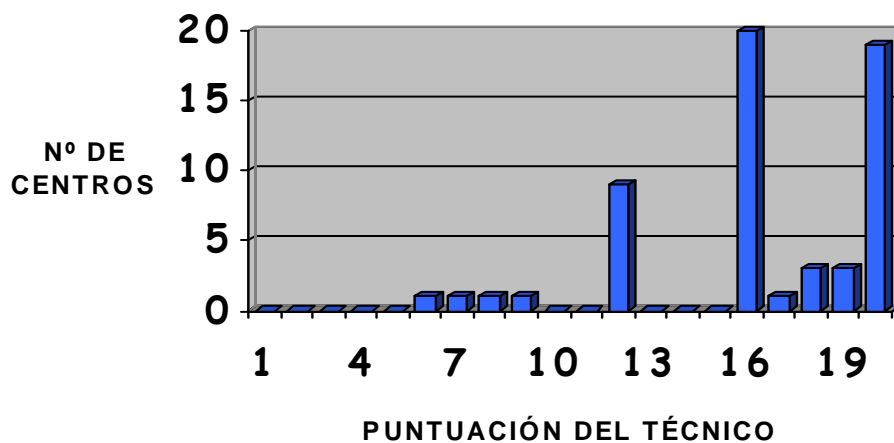
Comentarios GCP: la mayoría de los resultados son óptimos para el diagnóstico y su utilización en rutina.

- El 85.5 % de las preparaciones remitidas se consideraron aceptables, con una valoración igual o superior a 12
- El 48% de las preparaciones, con una puntuación igual o superior a 16, fueron consideradas óptimas
- Los principales problemas detectados han sido:
 - Pretratamiento excesivo (sobrecalentamiento, pH inadecuado)
 - Débil inmunoreactividad,
 - Ligera señal de fondo, con difusión del cromógeno.
 - Tinción citoplasmática
 - Tinción irregular
 - Artefactos técnicos generales (hidratación, contraste inadecuado por exceso o defecto, defectos en la manipulación con rotura del corte, etc).

RESULTADOS DE LA AUTOEVALUACIÓN EN EL CONTROL APORTADO POR GCP

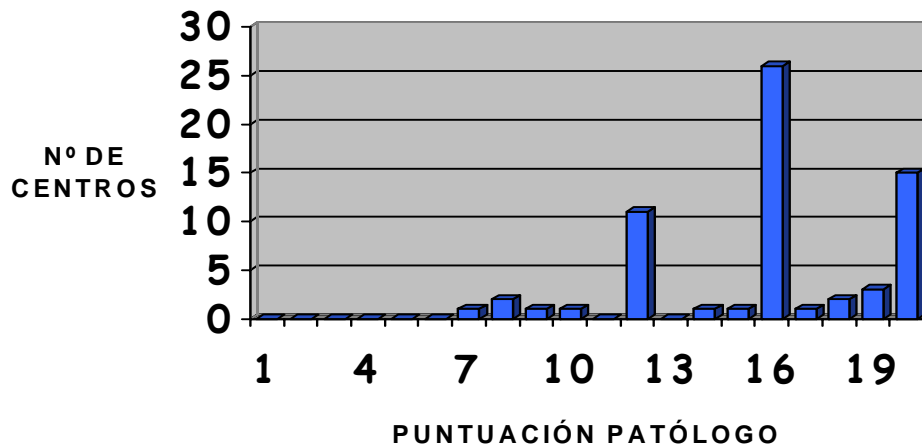
El 85.5% de los técnicos y el 94.20% de los patólogos participantes remitieron sus resultados.

1.- Gráfica correspondiente a la valoración del técnico en el Control del GCP (Carcinoma de mama)



- El 93.2 % considera que su técnica es de calidad aceptable (valoraciones de 12 o superior)
- El 78 % la considera de calidad óptima, (valoraciones de 16 o superiores)

2.- Gráfica correspondiente a la valoración del Patólogo en el Control del GCP (carcinoma de mama)



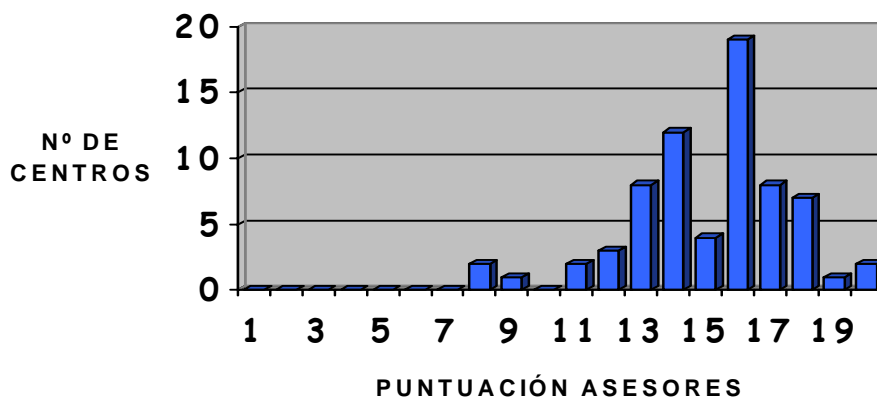
- 92.3% considera aceptable su técnica
- 72.3% la considera óptima

ANÁLISIS DE LOS CONTROLES LOCALES

Las muestras que se han remitido como controles de la técnica han sido:

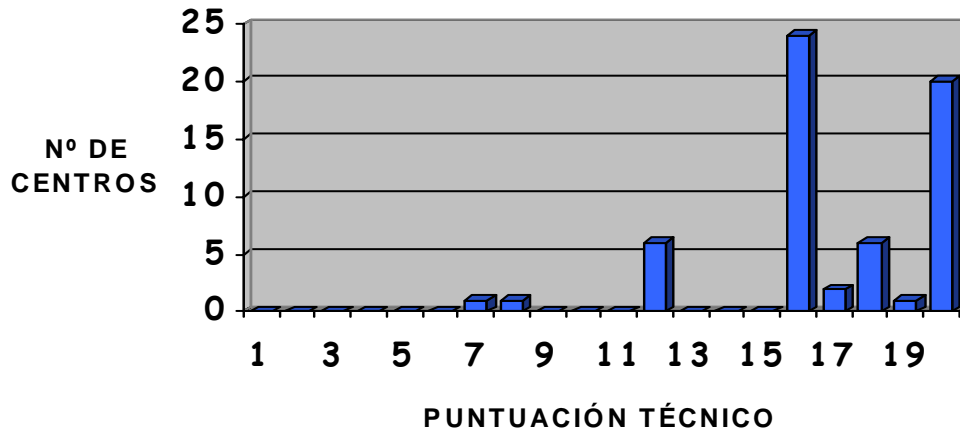
Mama	Carc ductal Infiltrant	Carc Lobulillar	Carc papilar	Carc. Coloide	Carc. mama	Endometrio	Papiloma intraductal
15	39	2	1	1	11	1	1

1.-Gráfica correspondiente a las valoraciones globales de los asesores en los Controles Locales



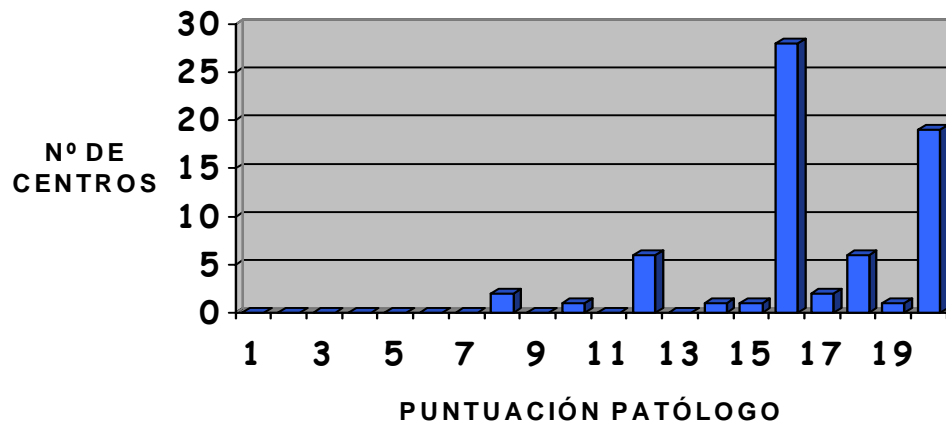
- Se concedió una valoración igual o superior a 12 al **92.7%** de las preparaciones remitidas.
- El **53.6 %** de las preparaciones se consideraron técnicamente óptimas

2.-Gráfica correspondiente a la Autoevaluación del técnico en los Controles Locales



- Remitieron la auto evaluación 61 centros, correspondiendo con el 88.5% de los participantes
- 97% de los técnicos consideró su técnica aceptable con una valoración de 12 o superior
- El 87% la considera muy buena.

3.-Gráfica correspondiente a la Autoevaluación del Patólogo en los Controles Locales



- Remitieron la autoevaluación el 97% de los participantes
- Considerando igual o superior a 12, el 98.5 % de los participantes.
- El 95% considera la técnica excelente

DESCRIPCIÓN DE LOS MEJORES PROTOCOLOS UTILIZADOS

Los protocolos incluidos a continuación representan las mejores valoraciones y pueden servir de *GUIA* par aquellos laboratorios con valoraciones no óptimas.

1.- Método de Visualización: EnVision

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: Autostainer DakoCytomation

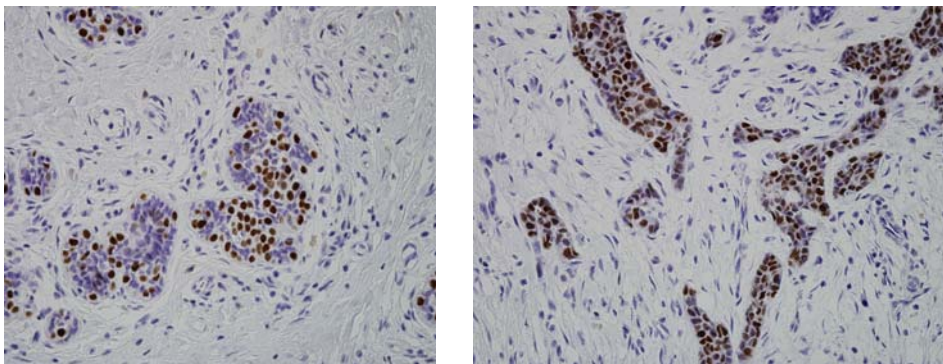
Digestión enzimática: No

Recuperación antigénica con calor: Olla a presión 2 minutos

Tampón y pH: Citrato pH 9

Anticuerpo primario: Dako, clon 6F11 , 1:40 durante 30 minutos a temperatura ambiente

Cromógeno: Dako DAB



Óptima demostración del antígeno: Receptor de Estrógenos en el carcinoma de mama enviado como control por el Programa de Garantía de Calidad en inmunohistoquímica (GCP) de la SEAP.

Se puede observar fuerte señal nuclear en ductos positivos.

2.- Método: EnVision

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: Autostainer DakoCytomation

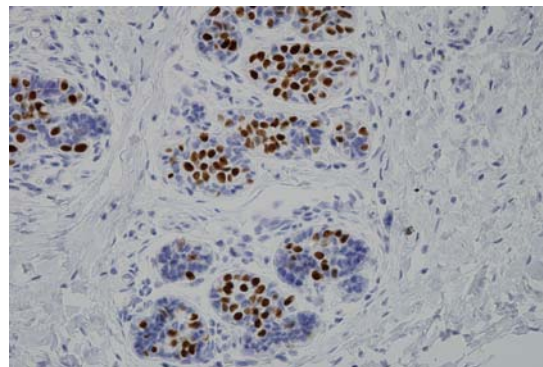
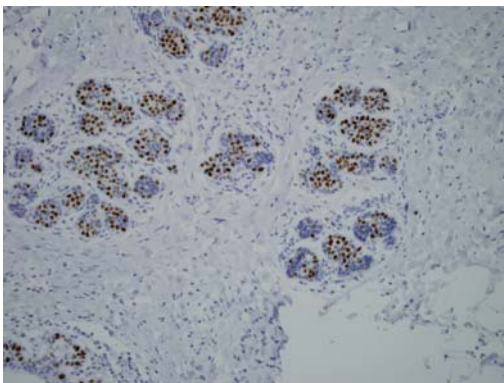
Digestión enzimática: No

Recuperación antigénica con calor: Baño María 99°C 20 minutos

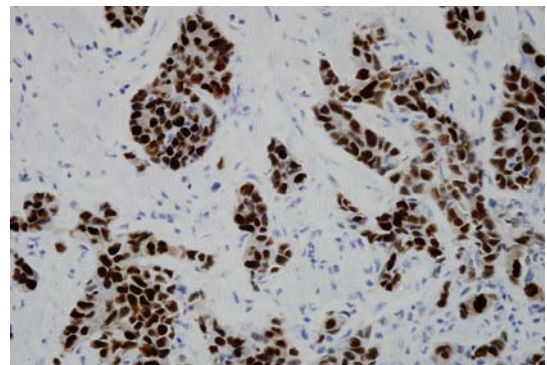
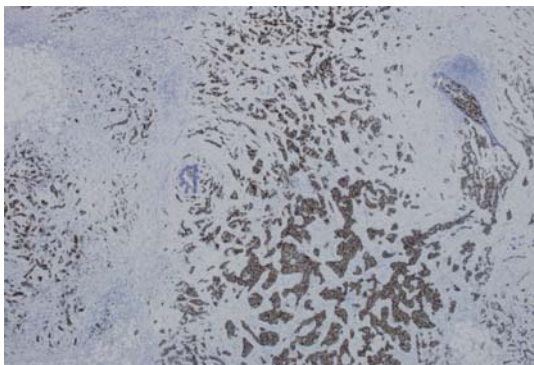
Tampón y pH: Tris-EDTA pH 9

Anticuerpo primario: Novocastra, clon 6F11, 1:200 durante 30 minutos a temperatura ambiente

Cromógeno: Dako DAB



Excelente inmunotinción nuclear para Receptor de Estrógenos en glándulas normales del control. (control positivo interno)



Inmunotinción nuclear con fuerte inmunoreactividad en la zona tumoral del control GCP

3.- Método: Novocastra

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: I 6000 Biogenex

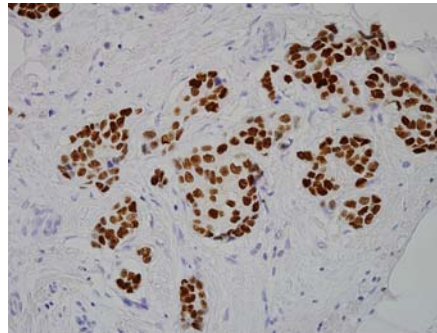
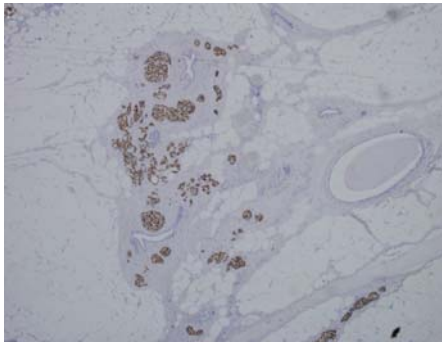
Digestión enzimática: No

Recuperación antigénica con calor: Decloaking Chamber Menarini 11 minutos

Tampón y pH: Citrato pH 6

Anticuerpo primario: Biocare, clon ER007, prediluido durante 25 minutos a temperatura ambiente

Cromógeno: Novocastra DAB



Excelente demostración de Receptor de Estrógenos en el control local enviado. Valoración de 20

4.- Método: LSAB

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: Horizon DAKoCytomation

Digestión enzimática: No

Recuperación antigénica con calor: Olla presión 3 minutos

Tampón y pH: Citrato pH 6

Anticuerpo primario: Dako, clon 1D5, prediluido durante 25 minutos a temperatura ambiente

Cromógeno: Dako DAB

5.- Método: EnVision

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: NO

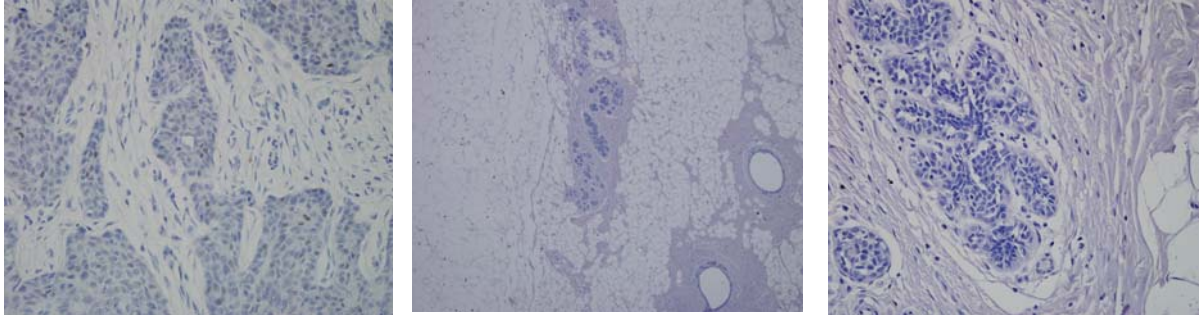
Digestión enzimática: No

Recuperación antigénica con calor: Baño María:20 minutos

Tampón y pH: Tris-EDTA pH 9

Anticuerpo primario: Dako, clon 1D5, prediluido durante 25 minutos a temperatura ambiente
Cromógeno: Dako DAB

Imágenes con ausencia de señal para la demostración de RE (valoración 4)



Comentarios: Los resultados demuestran una óptima inmunotinción para el diagnóstico con mas de un 85% y 92% en los controles GCP y locales respectivamente. Observándose una mejor calidad respecto a rondas anteriores.

Aunque la señal nuclear es frecuentemente acompañada de señal citoplasmática en algunas células, su presencia es normalmente ignorada. En ocasiones, sin embargo la señal citoplasmática puede ser excesiva y puede llegar a ser inespecífica, estando acompañada de tejido conectivo y componente reactivo (linfocitos) también falsamente positivo. Cuando esto se observa, la especificidad se puede poner en duda y la técnica se ha de considerar inaceptable.

Las glándulas normales que frecuentemente podemos encontrar en los bordes de la lesión pueden servir de control interno positivo, teniendo en cuenta que alrededor del 15% de las células de los ductos normales deben ser positivas. Su presencia es de gran valor en aquellos tumores con Receptores de Estrógenos negativos.

Los resultados de la auto evaluación siguen siendo superiores a los otorgados por los asesores, probablemente porque se obvían aspectos técnicos tales como homogeneidad de señal, calidad global de la técnica tanto inmunohistoquímica como histológica.

Referencias

- 1.- Rhodes A, Jasani B, Barnes DM, Bobrow LG, Miller KD. Reliability of immunohistochemical demonstration of oestrogen receptors in routine practice: inter-laboratory variance in the sensitivity of detection and evaluation of scoring systems. *J Clin Pathol* 2000;53:125-130.
- 2.- Rhodes A, Jasani B, Balaton AJ, Miller KD. Immunohistochemical demonstration of oestrogen and progesterone receptors: correlation of standards achieved on "in house" tumours with that achieved on external quality assessment material in over 150 laboratories from 26 countries. *J Clin Pathol* 2000; 53:292-301
- 3.- Rhodes A, Jasani B, Balaton AJ, Barnes DM, Anderson E; Bobrow LG; Miller KD. Study of interlaboratory reliability and reproducibility of estrogen and progesterone receptor assays in Europe: documentation of poor reliability and identification of insufficient microwave antigen retrieval time as a major contributory element of unreliable assays. *Am J Clin Pathol* 2001; 115: 44-58
- 4.- Leake R, Barnes D, Pinder S, Ellis I, Anderson E, Anderson T, Adamson R, Rhodes A, Miller K, Walker R on behalf of the UK receptor Group, UK NEQAS, the Scottish Breast Cancer Pathology Group and the Receptor and Biomarker Study Group of the EORTC. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *J Clin Pathol* 2000; 53:634-635