



**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 QUIRURGICA

### **Ronda nº 9**

#### **Antígeno probado: c-kit (CD117)**

**Tejido probado:** Tumor Estromal Gastronintestinal (GIST)

**Instrucciones:** Los participantes fueron invitados a teñir con c-kit (CD117) un preparación de GIST 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:** 94
- **Contestados:** 72 GCP y 66 Control local

#### **Anticuerpos y Métodos evaluados:**

##### **Anticuerpos Primarios:**

DAKO Policlonal A4502	50
Novocastra Monclonal T595	8
Master Diagnostica	6
Zymed	3
DAKO Monclonal C7244	1
Biocare Medical	1
Atom	1

##### **Recuperación antigénica:**

- Calor: 56 (70%)
  - Microondas
  - Olla a presión
  - Baño María
  - PT Module Lab Vision

**Detección:**

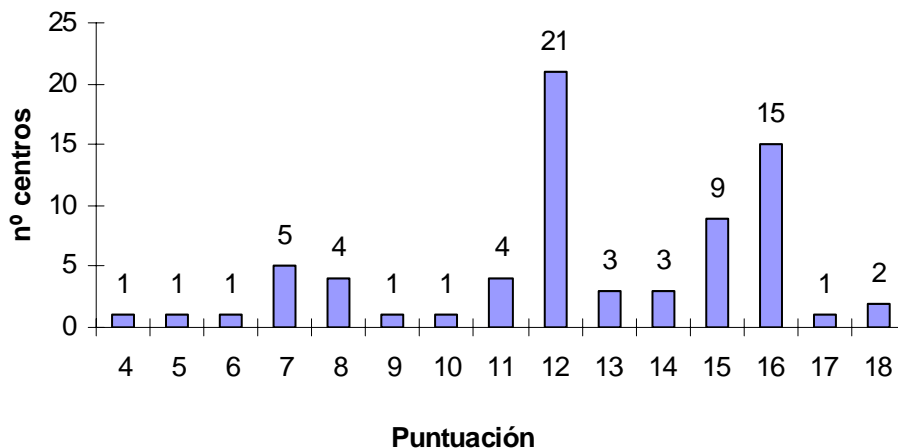
Dako Envision  
Dako LSAB  
Ventana Benchmark  
Biogenex

**Automatización:** 62 (86 %)

Dako Techmate 500 (22,5 %)  
Dako Techmate Horizon (5 %)  
Lab Vision Autostainer (42 %)  
Bond X/Bond Max (13 %)  
Ventana (Benchmark/Nexes/Discovery) (14,5 %)  
Sin especificar (3 %)

**pH:**

pH 6: 40 %  
pH9: 26 %  
pH8: 24 %  
pH entre 7 y 8: 5 %  
pH entre 6 y 7: 5 %

**Estudio de los controles remitidos por el programa GCP:****CD117 GCP Puntuación Asesores**

Considerando que una puntuación igual o superior a 12 se considera aceptable, el 75 % (54) de las preparaciones remitidas se consideraron como aceptables, con un 25 % (18) con una puntuación igual o superior a 16/20, consideradas como óptimas o cercanas.

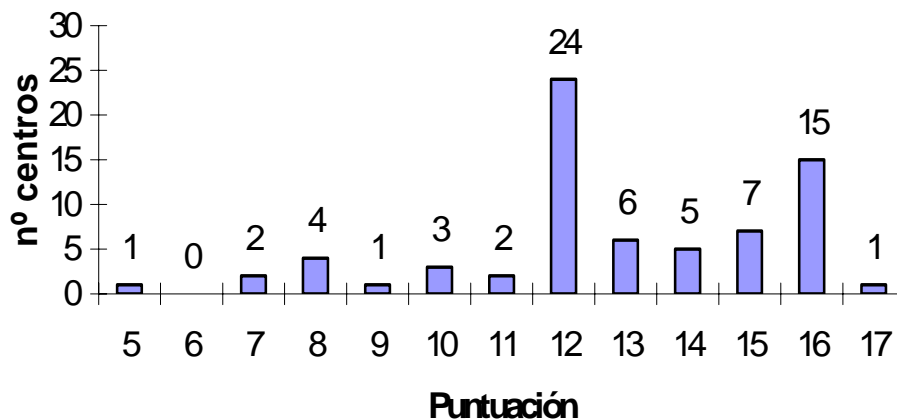
Un 25 % de los centros participantes (18) no alcanza el nivel mínimo para considerar que la técnica puede aplicarse de manera rutinaria.

Los principales problemas detectados son los habituales:

- Alta frecuencia de tinción irregular, con distintas intensidades en las que se observan áreas del tejido con una intensidad de la tinción o número de células inmunorreactivas inferior al esperable.
- Artefactos técnicos generales, no directamente relacionados con la inmunoreactividad del anticuerpo pero también importantes (hidratación, contraste inadecuado por exceso/defecto, defectos en manipulación con rotura del corte, etc.).

**Estudio de los controles de cada centro:**

**CD117 Control Local Asesores**

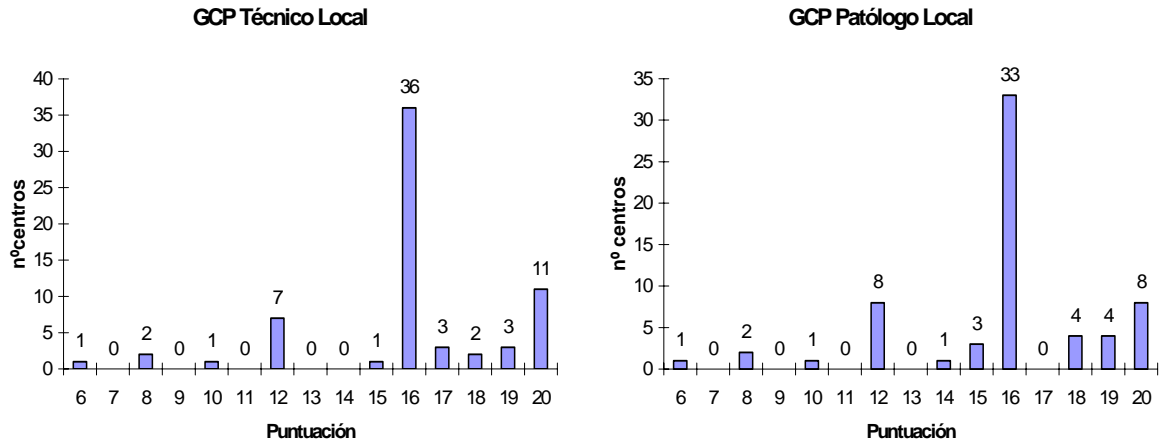


Teniendo en cuenta que una puntuación igual o superior a 12 se considera aceptable, el 81,7 % de las preparaciones remitidas se estimaron aceptables. Un 22,5 % obtuvieron una puntuación igual o superior a 16/20, consideradas como óptimas o cercanas. Un 18,3 % de los centros no alcanzaron la calidad suficiente para considerar que la técnica puede aplicarse de manera rutinaria.

Existieron pocas discrepancias en los resultados respecto al control GCP-SEAP, con una alta frecuencia de tinción irregular, tinciones de intensidad débil o insuficiente y presencia de leve fondo inespecífico. Un porcentaje reseñable de casos mostró signos de pretratamiento (exceso de tiempo y/o calor).

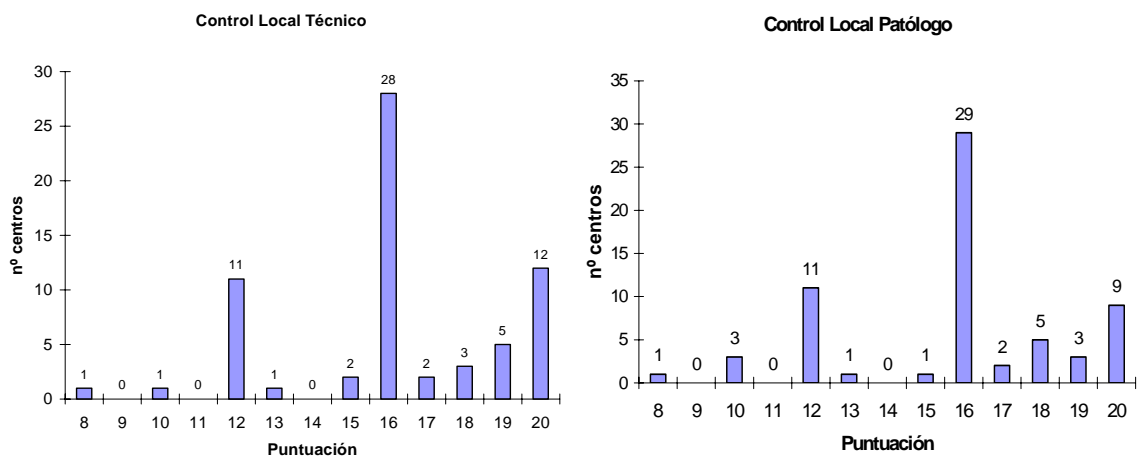
**Resultados de la autoevaluación:** El 93 % de los técnicos y el 90 % de los patólogos participantes remitieron su valoración de los controles locales y del control del GCP. Los resultados obtenidos del análisis de tales datos son los siguientes:

## Control del GCP



Como se puede observar en los gráficos y reconocemos en la mayoría de las técnicas analizadas, la percepción local sobre los resultados es muy superior a la valoración de los observadores externos. Para los técnicos participantes el 81,8 % de los casos tenían una puntuación igual o superior a 16/20. Este porcentaje era del 75 % en el caso de los patólogos. En ambos casos esas cifras eran muy superiores a las de los observadores externos (25 %).

## Control Local



Los resultados son similares al control de GCP, con un 75,8 % de preparaciones con una puntuación igual o superior a 16/20 para los técnicos, y un 73,8 % para los patólogos, Sigue observándose una notable discrepancia con la valoración de los asesores externos (22,5 %).

### **Tipo Controles Locales:**

Los controles locales remitidos fueron tumor GIST (35, 57 %), intestino (16, 25 %), piel (3), seminoma (2), melanoma (2), colon (1), multitejido (1), duodeno (1), riñon (1).

### **Valoración Inmunotinción:**

Se consideró una inmunotinción óptima para este anticuerpo la que mostraba teñidas con un patrón claro de membrana pero también citoplasmático los mastocitos, así como las células intersticiales de Cajal de pared intestinal y apendicular (en algunas secciones estos elementos podían ser escasos o inconspicuos), sin tinción de fondo de células musculares lisas. En las células neoplásicas correspondientes a GIST se valoró como óptimo el patrón citoplasmático intenso, con realce (“enhancement”) de membrana, y con frecuencia un patrón de positividad en el área del aparato de Golgi (“Dot”).

Los criterios generales de puntuación empleados son los reflejados en las hojas de resultados individuales remitidas. Para ejemplos de las diferentes valoraciones se podrán visitar en breve las preparaciones representativas escaneadas en la página web de la SEAP, en el apartado del Programa de Garantía de Calidad (GCP-SEAP).

### **Mejores métodos:**

Método: ENVISION

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: DAKO TECHMATE 500 Plus

Digestión enzimática: No

Recuperación con calor (HIER): Olla a presión en tampón EDTA a pH 8

Anticuerpo primario: DAKO policlonal, 1:400 durante 30 minutos a temperatura ambiente

Cromógeno: DAB DAKO 5 minutos

(puntuación de 18/20 en las preparaciones del GCP)

Método: ENVISION

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: No referida

Digestión enzimática: No

Recuperación antigénica con calor: Pascal 1 minuto en tampón citrato a pH 9

Anticuerpo primario: DAKO policlonal, 1:400 durante 15 minutos a temperatura ambiente

Cromógeno: DAB DAKO 10 minutos

(puntuación de 18/20 en las preparaciones del GCP)

## **Comentarios Generales:**

En conjunto, la mayoría de los resultados son adecuados para su utilización rutinaria, aunque sigue habiendo un porcentaje apreciable de casos con deficiencias, especialmente y en este anticuerpo en el patrón e intensidad óptimos de la inmunotinción, tanto en la expresión en las células reticulares de Cajal como en los GIST, y en mucho menor grado en el control de mastocitos.

Los resultados no aceptables para un diagnóstico rutinario correspondían a inmunotinción insuficiente (25 % en Control GCP y 18,3 % en Control Local), tanto por un falso negativo como por un falso positivo. Las causas más frecuentes fueron concentración no idónea del anticuerpo (por exceso o por defecto), omisión o defecto de recuperación inducida por calor, o elección no adecuada del anticuerpo.

Las inmunotinciones negativas falsas se caracterizaron por tinción débil, no adecuada o casi inexistente en las células neoplásicas del GIST, o bien en las células reticulares de Cajal en apéndice o intestino delgado. La mayor parte de los casos mostraban un buen control de mastocitos, aunque el patrón de membrana discreto se solía correlacionar con expresión igualmente débil del anticuerpo el resto de tejidos o tumores diana.

Las inmunotinciones positivas falsas se apreciaron en células endoteliales y células musculares lisas, habiendo sido descritas igualmente en centros germinales, y son el presumible resultado de exceso en la concentración o del tiempo de incubación del anticuerpo primario, con o sin recuperación antigénica inducida por calor.

En conclusión, la valoración global de c-kit en esta ronda ha sido bastante satisfactoria, en especial por tratarse de la primera vez que se testa este anticuerpo en el Panel de Patología Quirúrgica. Es de esperar que en base al patrón referido de inmunotinción óptima, y los parámetros de los laboratorios con mejores resultados, los resultados mejoren en una futura ronda.

El actual control es un GIST con inmunotinción intensa, que incluye en mayor o menor medida pared intestinal. Se valorará si el futuro control de GCP-SEAP sea pared intestinal/apendicular, o bien combinación de pared intestinal con GIST, de tal forma que se pueda valorar la expresión de CD117 tanto en el tejido neoplásico como en las células diana intestinales (mastocitos y células de Cajal).