



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 10

**Antígeno probada: Citoqueratina HMW**

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

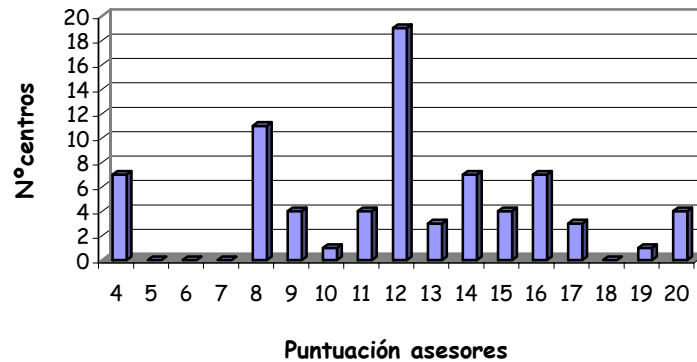
**Instrucciones:** Los participantes fueron invitados a teñir con Citoqueratina HMW la preparación remitida por el programa (próstata, hiperplasia adenomiomatosa fijada en formol tamponado 10%, pH 7, durante 24 horas) y su propia preparación control, devolviendo ambas preparaciones para su evaluación.

**Número de laboratorios participantes:**

- Remitidos: 106
- Contestados: 75 (70,7%) GCP y 74 (69,8%) Control Local

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

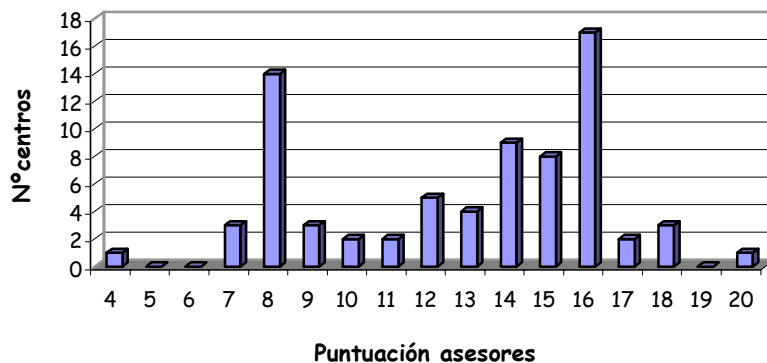
**HMW-CK GCP**



Considerando que una puntuación igual o superior a 12/20 se considera aceptable, el 64% de las preparaciones remitidas se consideraron aceptables. El 44% de los centros obtuvo una puntuación entre 12 y 15, considerada aceptable, pero no excelente. Un 20% obtuvo puntuación igual o superior a 16/20, considerada como óptima o cercana. El 5,3% alcanzan la máxima puntuación 20/20. Un 36% 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 tinción o un número de células teñidas inferior a lo esperado. Otro problema detectado con frecuencia ha sido el artefacto en el tejido debido a excesivo pretratamiento. En algunos casos la técnica no ha discriminado las células normales de las neoplásicas.

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

**HMW CK LOCAL**



Considerando que una puntuación igual o superior a 12/20 se considera aceptable, el 66,2% de las preparaciones remitidas se consideraron aceptables. El 35,1% de los centros obtuvo una puntuación entre 12 y 15, considerada aceptable, pero no excelente. Un 31,1% obtuvo puntuación igual o superior a 16/20, considerada como óptima o cercana. Un centro alcanzó la máxima puntuación 20/20. Un 33,8% 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 tinción o un número de células teñidas inferior a lo esperado. Otro problema detectado con frecuencia ha sido el artefacto en el tejido debido a excesivo pretratamiento, así como tinción irregular que podría ser debida al procesamiento del tejido previo a la inmunohistoquímica.

Los controles locales remitidos fueron

- Próstata: 62. De los cuales se especificaron
  - Adenocarcinoma: 4
  - Hiperplasia: 3
  - Adenoma: 2
- Piel: 4
- Amígdala: 4
- Otros: 2

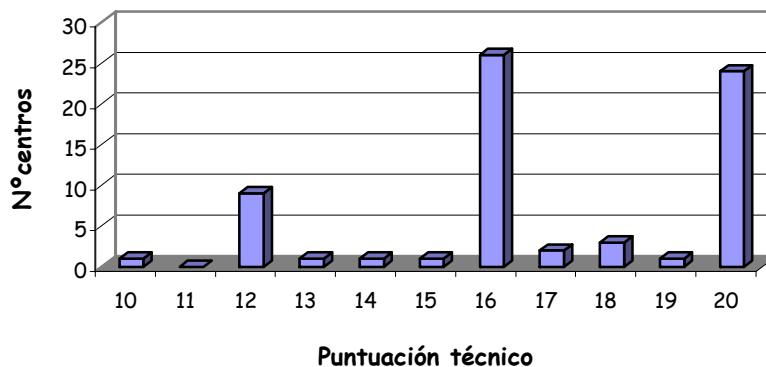
### Resultados de la autoevaluación:

El 92% de los técnicos y el 97,3% de los patólogos participantes remitieron su valoración de los controles del GCP y el 89,2% y el 96% respectivamente de los controles locales.

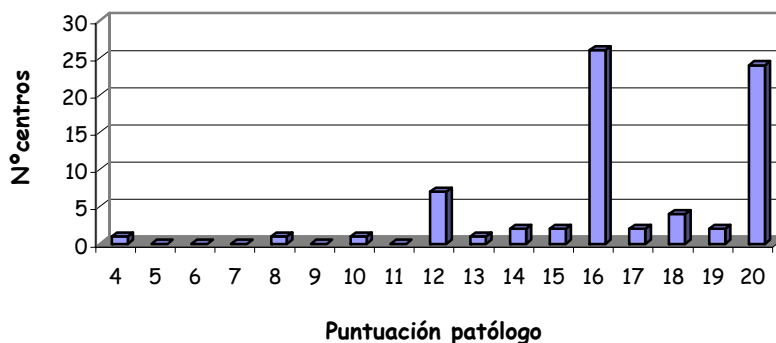
Los resultados obtenidos en esta ronda son los siguientes:

### Control GCP

#### HMW-CK GCP



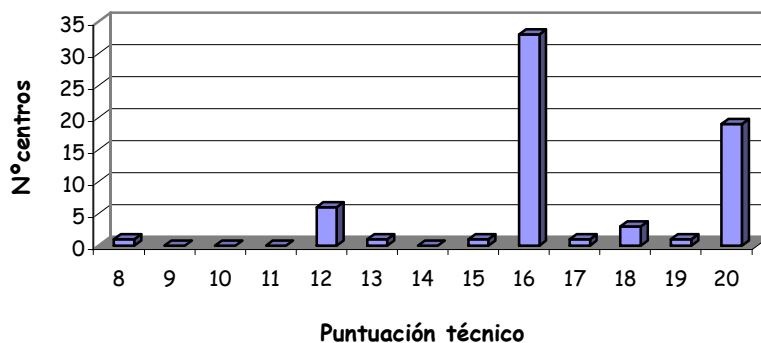
### HMW-CK GCP



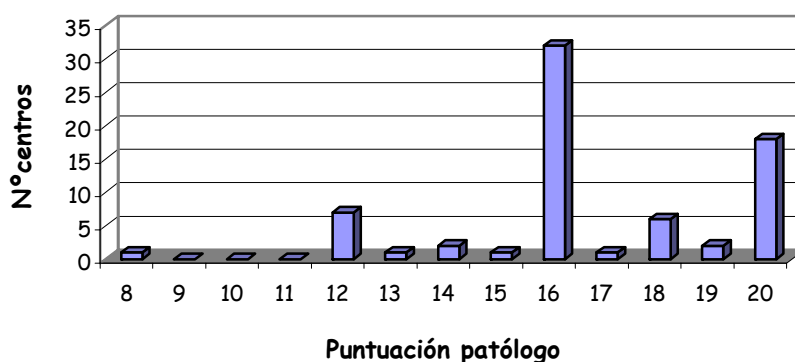
Como se puede observar en los gráficos, la percepción local sobre los resultados de la técnica es superior a la valoración de los observadores externos. Para los técnicos participantes, el 74,6% de los casos tenía una puntuación igual o superior a 16/20. En el caso de los patólogos el porcentaje era del 77,3%. En ambos casos las cifras de la autoevaluación son claramente superiores a las de los observadores externos (20%).

### Control Local

#### HMW CK LOCAL



#### HMW CK LOCAL



Los resultados son similares a los del control GCP. Los casos con puntuación igual o superior a 16/20 eran el 77% para los técnicos y el 79,8% para los patólogos. Sigue observándose una notable discrepancia con la valoración de los observadores externos (31,1%).

**Inmunotinción óptima:** Se consideró como inmunotinción óptima la que mostraba expresión citoplasmática intensa en las células basales prostáticas normales e hiperplásicas, siendo negativa en las células de carcinoma, con una adecuada relación de la intensidad de la tinción con respecto al contraste empleado y 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). Las células estromales y del epitelio acinar deben ser negativas. Los criterios generales de puntuación empleados son los reflejados en las hojas de resultados individuales remitidas.

**Anticuerpos y métodos evaluados:**

**Métodos:**

- EnVision	27
- StrepAv marcada	13
- Bond Polymer (BioSystems)	8
- ABC Strep	6
- MasVision	4
- ABC	3
- Iview	3
- Novolink	2
- PAP	1

**Automatización:**

- Autostainer	32
- Techmate 500	9
- Techmate Horizon	7
- Bond Max (NCL)	7
- Ventana Benchmark	7
- Bond X	1
- Ventana Nexes	1

**Bloqueo:**

Todos los centros que lo especificaron bloquearon con agua oxigenada.

**Anticuerpos primarios:**

- Dako, clon 34 $\beta$ E12	47
- Master Diagnóstica, clon 34 $\beta$ E12	12
- Novocastra, clon 34 $\beta$ E12	7
- Zymed, clon 34 $\beta$ E12	3
- Neo Markers, clon DE-SQ	2
- Master Diagnóstica, clon AE1/AE3	1

**Recuperación antigénica:**

- Calor pH 6-7,6	43
- Calor pH 8-9	9
- Enzimática	10
- Enzimática + calor	4

**Mejores métodos:**

Puntuación 20/20 en las preparaciones GCP o en los controles locales:

- A) Método: EnVision Dual Dako 30 minutos  
Bloqueo: Agua oxigenada  
Automatización: Autostainer-Plus  
Digestión enzimática: No  
Recuperación con calor: Olla, tampón citrato pH 6,5, 2 minutos  
Anticuerpo primario: Dako M0630, dilución 1:600, 30 minutos
- B) Método: EnVision Dako, 30 minutos  
Automatización: No  
Digestión enzimática: No  
Recuperación con calor: Olla, tampón EDTA pH 9, 2 minutos  
Anticuerpo primario: Dako M0630, dilución 1:1000, 30 minutos
- C) Método: StrepAv marcada Dako, prediluido 25 minutos  
Automatización: TechMate  
Digestión enzimática: No  
Recuperación con calor: Olla, tampón pH 6, 2 minutos  
Anticuerpo primario: Dako 34 $\beta$ E12, dilución 1:50, 40 minutos
- D) Método: Iview, Ventana  
Automatización: Benchmark Ventana  
Digestión enzimática: Proteasa 2 Ventana, 4 minutos  
Recuperación con calor: No  
Anticuerpo primario: No especificado

- E) Método: EnVision Dako, 30 minutos  
Automatización: Autostainer Plus  
Digestión enzimática: No  
Recuperación con calor: Olla, tampón citrato pH 6, 3 minutos  
Anticuerpo primario: Dako M0630, dilución 1:40, 30 minutos

**Comentarios:** No se observa una gran discrepancia en los resultados según se analicen los controles locales o el control del GCP, aunque los primeros obtienen valoraciones algo superiores. La mayoría de los resultados son adecuados para su utilización rutinaria.

La mayoría de los centros realizaron recuperación antigénica por calor con tampón citrato pH6-6,5. El sistema de detección EnVision fue el más utilizado y se usó el cromógeno DAB de forma generalizada. En alguna ocasión, el control local seleccionado no fue el adecuado para el antígeno a demostrar.

El clon más ampliamente utilizado fue 34 $\beta$ E12 y fue con el que se consiguieron los mejores resultados. 34 $\beta$ E12 reconoce las citoqueratinas 1, 5, 10 y 14 y ha demostrado ser apropiado para evidenciar las citoqueratinas de alto peso molecular en las células basales de la glándula prostática. La negatividad de las células basales prostáticas para citoqueratinas de alto peso molecular puede ser indicativa de neoplasia de próstata. El clon DE-SQ, que reconoce las citoqueratinas 13, 14, 15 y 16, fue utilizado por dos laboratorios con resultados aceptables. La citoqueratina AE1/AE3 reconoce una extensa gama de citoqueratinas y debe de considerarse como una citoqueratina de amplio espectro.

El control externo recomendado es próstata fijada en formol tamponado al 10 % durante 24 horas como máximo. En caso de usar adenocarcinoma de próstata como control, se recomienda que el fragmento contenga también zonas de próstata normal o hiperplásica.

#### **Bibliografía:**

- Branner MK, Peehl DM, Stamey TA, Bostwick DC. Keratin immunoreactivity in the benign and neoplastic human prostate. *Cancer Res* 1985;45:3663-67.
- Varma M, Jasani B. Diagnostic utility of immunohistochemistry in morphologically difficult prostate cancer: review of current literature. *Histopathology* 2005;47(1):1-16.