



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 de Mama

Ronda 5

Antígeno probado: Receptores de Estrógenos (RE)

Tejido probado: Adenocarcinoma ductal infiltrante de mama

Instrucciones: Se solicitó a los participantes realizar inmunotinción para RE sobre la preparación remitida por el Programa de Garantía de Calidad en Patología (sección de adenocarcinoma ductal infiltrante de mama, fijada en formol al 10%, pH 7, durante 24 horas) y su propia preparación control, devolviendo ambas para su evaluación.

Número de laboratorios participantes:

Remitidos: 98

Contestados: 89 (90,81%) Control GCP y 88 (89,79%) Control Local

Distribución de los anticuerpos evaluados

Clona 1D5: 35 laboratorios; 39,3% (34 Dako, 1 Neomarkers)

Clona 6F11: 27 laboratorios; 30,3% (21 Novocastra, 3 Ventana, 2 Master Diagn, 1 Zymed)

Clona SP1: 19 laboratorios; 21,3% (14 Master Diagn, 3 DBS, 1 Ventana, 1 Labvision)

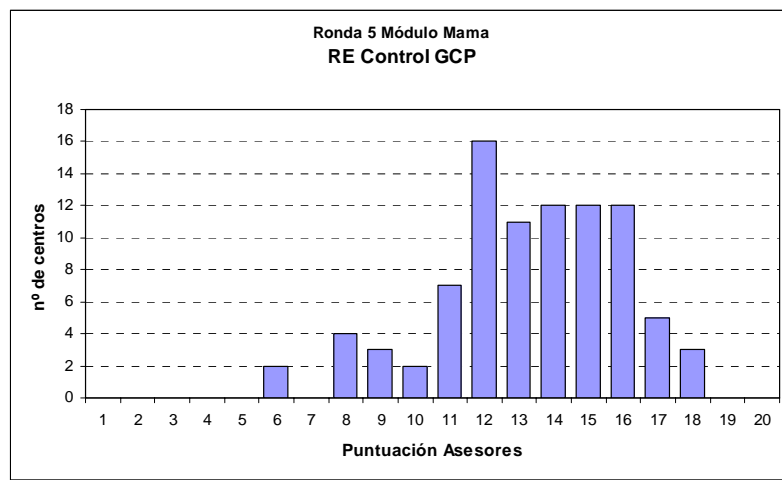
Clona ER007: 2 laboratorios; 2,2% (Biocare)

Clonas 1D5 + ER2-123: 2 laboratorios; 2,2% (Dako ER/PR pharmDx Kit)

Dato no aportado: 4 laboratorios

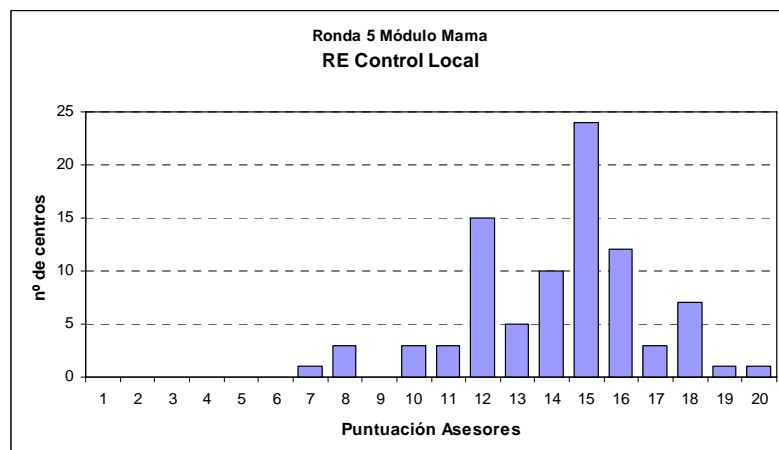
Estudio de los controles remitidos por el Programa GCP

Considerando una puntuación igual o superior a 12 como aceptable, el 79,77% de las preparaciones remitidas se consideraron aceptables. El 22,47% de las preparaciones obtuvieron una puntuación igual o superior a 16, consideradas como óptimas. En las técnicas con valoración entre 12 y 15 (aceptable pero no óptima) los problemas más frecuentes fueron los de señal difundida en exceso al citoplasma y tinción de fondo ligera. También se notaron casos con problemas de inmunotinción débil o irregular, o con déficit de inmunotinción en glándula normal. En los casos con puntuación inferior a 12 (no aceptable), la inmunotinción era muy escasa y en algún caso la tinción de fondo imposibilitaba la lectura de la preparación.



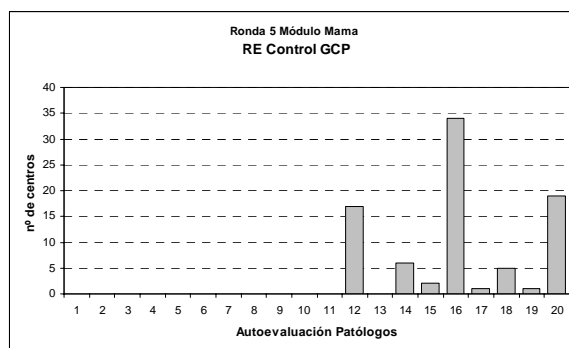
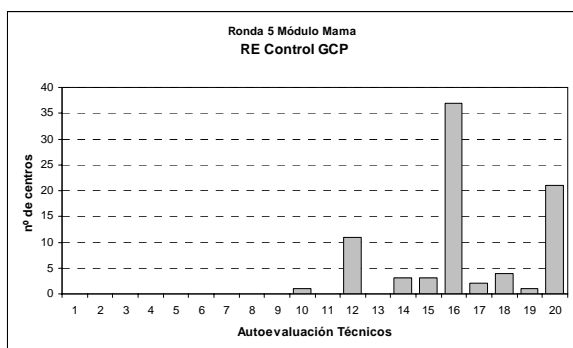
Estudio de los controles de cada centro

Considerando una puntuación igual o superior a 12 como aceptable, el 88,63% de las preparaciones remitidas se consideraron aceptables. El 27,27% de las preparaciones obtuvieron una puntuación igual o superior a 16, consideradas como óptimas. Mayoritariamente, los controles locales remitidos fueron secciones de adenocarcinoma de mama que fueron calificadas como aceptables por los asesores. Las técnicas con puntuación entre 12 y 15 (aceptable pero no óptima) presentaron fundamentalmente problemas de tinción irregular, difusión de la señal al citoplasma y exceso de tinción de fondo.

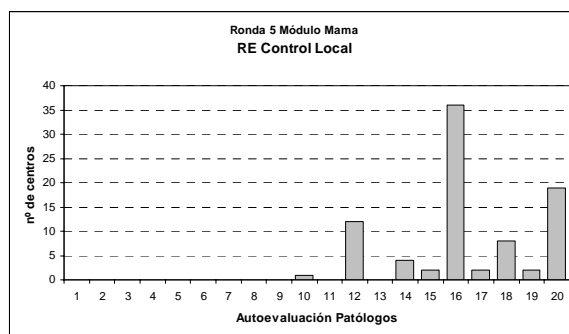
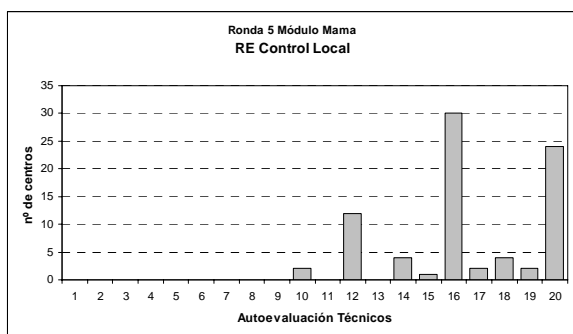


Resultados de la autoevaluación

El 93,25% de los técnicos y el 95,5% de los patólogos participantes remitieron su valoración de los controles GCP. El 92,04% de los técnicos y el 97,72% de los patólogos remitieron la autoevaluación de sus controles locales. Como se puede observar en los gráficos, la percepción local de los resultados de la técnica sobre los controles GCP es superior a la valoración de los asesores externos. Para los técnicos participantes, el 98,79% de los controles fueron considerados como aceptables con una puntuación ≥ 12 . Este porcentaje fue del 100% en el caso de los patólogos. El 78,31% de los técnicos y el 70,58% de los patólogos consideraron las inmunotinciones como óptimas (puntuación ≥ 16).



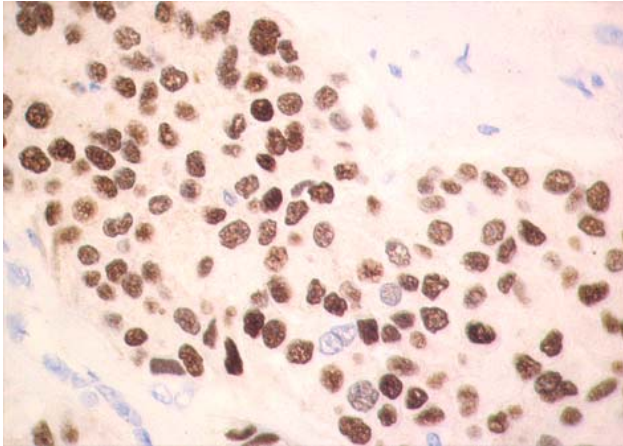
Sobre los controles locales, el 97,53% de los técnicos y el 98,83% de los patólogos consideraron las inmunotinciones como aceptables (puntuación ≥ 12); y el 76,54% de los técnicos y el 77,9% de los patólogos como óptimas (puntuación ≥ 16).



Inmunotinción óptima

Se consideró una inmunotinción óptima (veáse figura) la que mostraba inmunorreactividad nuclear de las células diana (aproximadamente 90% de las células

neoplásicas y focal en las glándulas adyacentes), en adecuado número e intensidad y ausencia de reactividad en otros componentes tisulares. Se prestó una especial atención a la ausencia de difusión a citoplasma. También se valoró la ausencia de tinción de fondo, el contraste adecuado, la integridad (no degradación) del tejido y la correcta manipulación histotécnica. Para ejemplos de las diferentes valoraciones, se recomienda visitar el apartado de Garantía de Calidad (Programa GCP) disponible en la página web de la SEAP.



Mejores métodos

Con puntuación 18 sobre el control GCP:

A. Pretratamiento: Módulo PT (Labvision) 8 min, tampón EDTA pH 8. Anticuerpo primario: Clon 1D5 (Neomarkers), dilución 1:200, incubación 20 min a temperatura ambiente. Método: Novolink (Novocastra) en TechMate 500 (Dako).

B. Pretratamiento: Bond Max (Vision Biosystems) 15 min, tampón pH 6. Anticuerpo primario: Clon 6F11 (Novocastra), prediluido, incubación 15 min a temperatura ambiente. Método: Bond Max Polymer System.

Con puntuación 17 sobre el control GCP:

C. Pretratamiento: Pascal (Dako) 1 min, tampón Tris-EDTA pH 9. Anticuerpo primario: Clon 1D5 (Dako), prediluido, incubación 30 min a temperatura ambiente. Método: Envision (Dako) en AutoStainer.

D. Pretratamiento: Olla a presión 3 min, tampón EDTA pH 8. Anticuerpo primario: Clon 6F11 (Master Diagnóstica), prediluido, incubación 30 min a temperatura ambiente. Método: Envision (Dako) en AutoStainer.

E. Kit ER/PR pharmDx (Dako) en AutoStainer, según protocolo.

F. Pretratamiento: Olla a presión 1 min, tampón citrato pH 6. Anticuerpo primario: Clon SP1 (Master Diagnóstica), prediluido, incubación 30 min a temperatura ambiente. Método: Envision (Dako) en TechMate 500.

Comentarios

La participación de los laboratorios en esta ronda de evaluación de RE vuelve a ser elevada (90,8%). El porcentaje de laboratorios con puntuación igual o superior a 12 (nivel aceptable o superior) sobre el control remitido por el programa GCP, es del 79,7% y por tanto inferior al de las dos últimas rondas que marcaban un alto nivel de aceptabilidad, en torno al 94%. Diecisiete laboratorios obtuvieron una puntuación inferior a 12. Es probable que el control GCP elegido en esta ronda haya planteado más dificultades en esta ocasión, pues los controles locales han tenido una aceptabilidad del 88,6%. Aunque de estos datos puede interpretarse que la mayoría de los laboratorios mantienen una adecuada rutina sobre la determinación de RE, el panel de evaluadores estima que sería deseable alcanzar un nivel óptimo (puntuación ≥ 16) al tratarse de una técnica que requiere una interpretación cuantitativa. En este sentido, el porcentaje de laboratorios con esa valoración ha sido notablemente bajo, tanto sobre el control GCP (22,4%) como sobre los controles locales (27,7%).

Técnicamente, se consiguieron inmunotinciones óptimas con cada una de las tres clonas de mayor distribución (1D5, 6F11 y SP1). Sobre los controles GCP, 7 de 35 laboratorios (20%) empleando la clona 1D5 obtuvieron una puntuación óptima/casi óptima, ≥ 15 . En el caso de la clona 6F11 esa puntuación fue obtenida por 14 de 27 laboratorios (51,8%) y en el caso de la clona SP1, por 8 de 19 laboratorios (42,1%). Independientemente de esta valoración, las tres clonas figuran representadas entre los mejores métodos. Los dos laboratorios que emplearon el Kit ER/PR pharmDx de Dako también obtuvieron tinciones óptimas. Prácticamente todos los laboratorios emplean recuperación antigénica mediante calor, ya sea con tampones a pH 6-7 (58,8% de laboratorios) ó pH 8-9 (41,2%). Para la clona 1D5, seis de siete laboratorios con puntuación óptima/casi óptima emplearon tampones a pH alto (8-9), lo cual parece muy recomendable en este caso. Las clonas 6F11 y SP1 parecen más robustas ante diferentes pH. Los laboratorios con puntuación óptima/casi óptima utilizaron mayoritariamente (aprox. 75%) métodos de detección basados en polímeros.