	
<p>SEAP Calle Ancora, 3, 2º B 28045 MADRID Tfno. y Fax 91 539 86 28 MAIL: SEAP@SEAP.ES</p>	<p>Programa de Garantía de Calidad en Patología</p>

Módulo IHQ GENERAL

25ª Ronda

Antígeno probado: **MELAN A**

Tejido probado: Suprarrenal + melanoma + riñón

Instrucciones: Los participantes fueron invitados a realizar la inmunotinción con MELAN A en la preparación remitida por el programa (suprarrenal +melanoma+riñón fijados 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: 92
- Contestados: 75 (81,5%) GCP
73 (79%) Control Local
- No contestados: 17 (18,5%) GCP
19 (21%) Control Local

Las puntuaciones obtenidas se agruparon en cuatro categorías:

- Pobre 1-9
- Regular 10-11
- Buena 12-16
- Óptima 17-20

Una puntuación de 12 o superior se considera aceptable para el uso rutinario del anticuerpo.

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

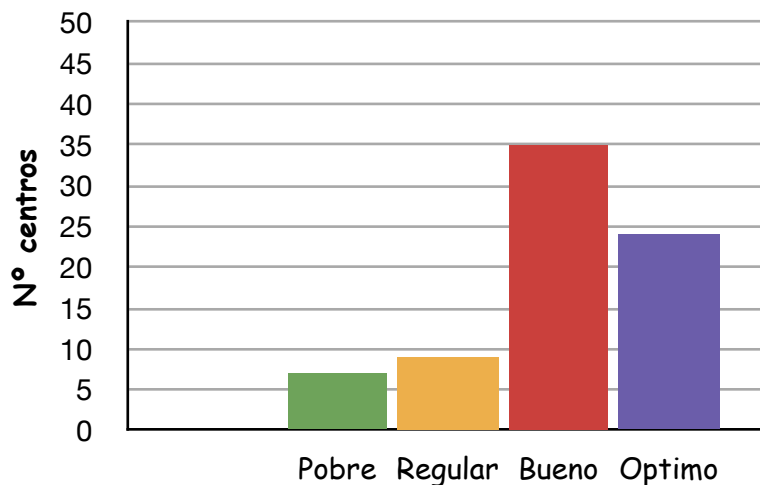
Valoración de los asesores

El 91% de las preparaciones (68/75) obtuvo una puntuación aceptable para su uso rutinario (12/20 o superior).

El 32% de las preparaciones (24/75) obtuvo una puntuación igual o superior a 16/20, considerada de muy buena calidad.

El 9% de las preparaciones (7/75) se consideró insuficiente para su uso rutinario (inferior a 12/20).

Melan-A Control GCP valoración asesores



La valoración de la inmunotinción de los tres tejidos en una sola preparación demostró diferencias de sensibilidad y especificidad para un mismo protocolo, siendo numerosas las preparaciones que obtuvieron distintas puntuaciones para las tres muestras.

Los principales problemas observados en la evaluación se refieren a una baja intensidad de tinción, a un bajo número de células diana positivas o a degradación del tejido por excesivo pretratamiento.

Resultados de la autoevaluación

Como se indica en las instrucciones remitidas, la autoevaluación es una parte importante del programa de Garantía de Calidad.

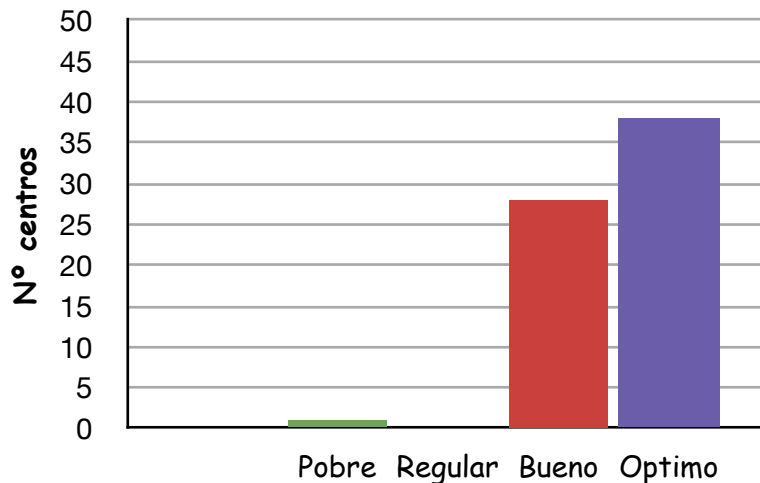
El 89% de los técnicos (67/75) y el 91% de los patólogos participantes (68/75) remitió su valoración del control GCP.

El 88% de los técnicos y de los patólogos (66/75) valoraron sus preparaciones con una puntuación igual o superior a 12/20, considerada aceptable para su uso rutinario.

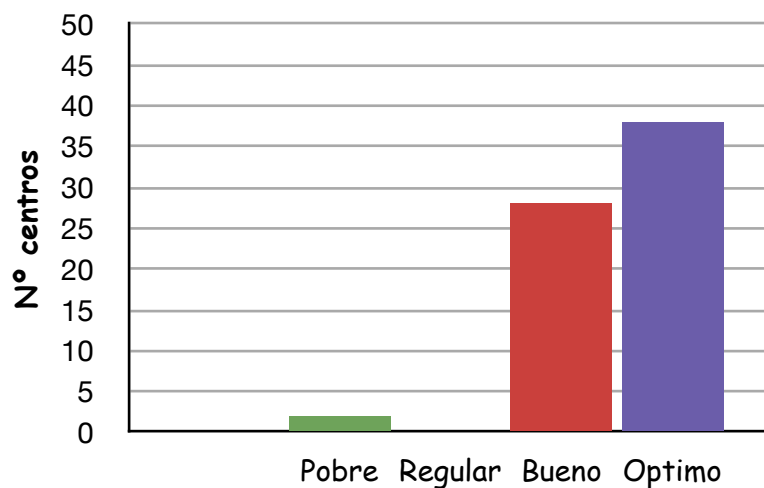
El 51% de los técnicos y de los patólogos consideraron sus preparaciones de muy buena calidad (superior a 16/20).

La percepción local sobre los resultados de la técnica es ligeramente superior a la valoración de los observadores externos.

Melan-A Control GCP valoración técnicos



Melan-A Control GCP valoración patólogos



Estudio de los controles locales:

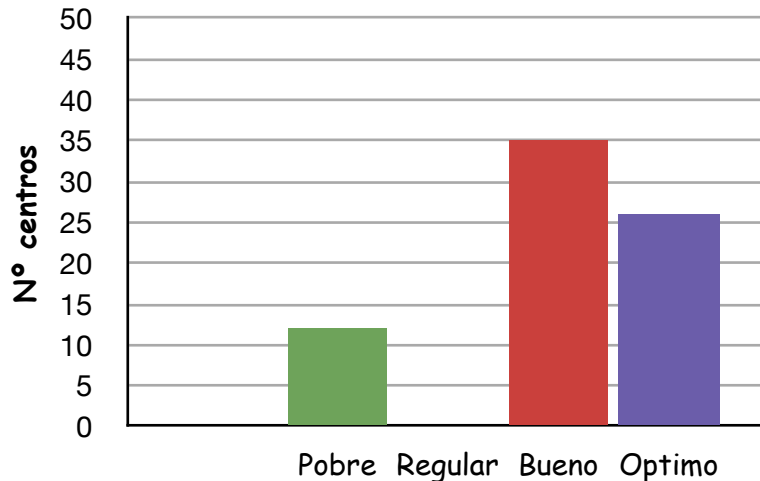
Valoración de los asesores

El 84% de las preparaciones (61/73) obtuvo una puntuación igual o superior a 16/20, considerada de muy buena calidad.

El 16% de las preparaciones (12/73) se consideró insuficiente para su uso rutinario.

De forma similar a los controles del GCP, los principales problemas observados en la evaluación de los controles locales se refieren a una baja intensidad de tinción, a un bajo número de células diana positivas o a degradación del tejido por excesivo pretratamiento.

Melan-A Control Local valoración asesores



Los controles locales remitidos especificados fueron:

Melanoma	30
Metástasis melanoma	13
Piel	7
Nevus	5
Suprarrenal	4
Multibloc	3
Otros	3

Resultados de la autoevaluación

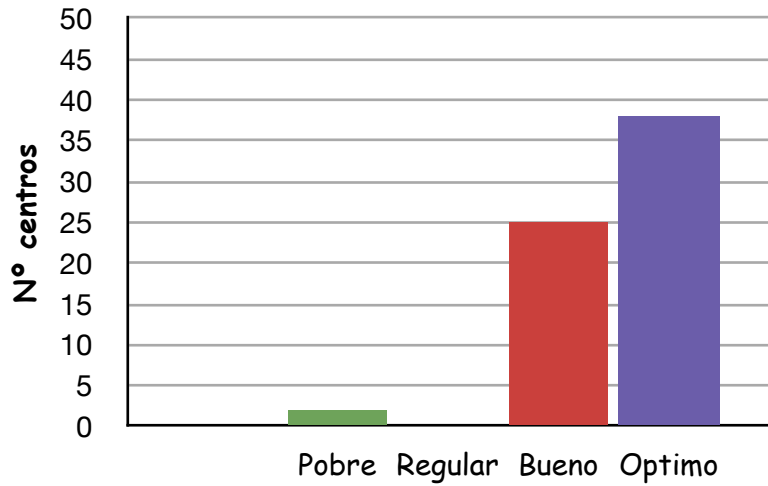
El 89% de los técnicos (65/73) y el 93% de los patólogos participantes (68/73) remitió su valoración del control local.

El 86% de los técnicos (63/73) y el 90% de los patólogos (66/73) valoró sus preparaciones con una puntuación igual o superior a 12/20, considerada aceptable para su uso rutinario.

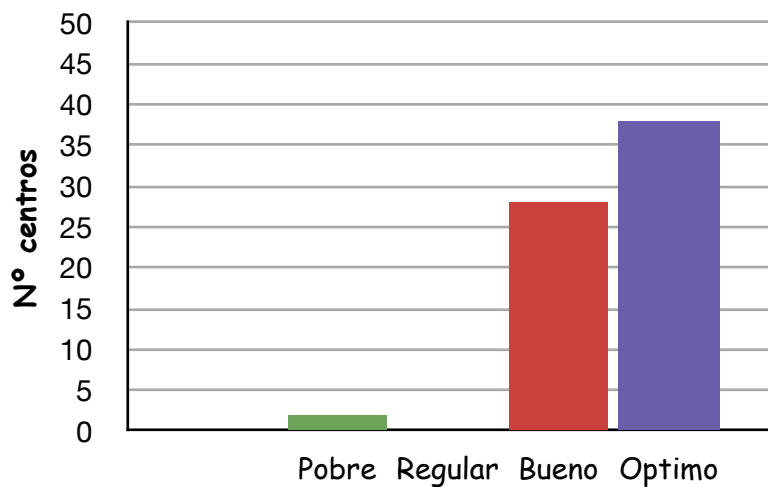
El 52% de los técnicos y de los patólogos consideraron sus preparaciones de muy buena calidad.

La apreciación de los técnicos y de los patólogos es ligeramente superior a la de los asesores externos, y puede ser útil la consulta a las imágenes en la web de la SEAP, con ejemplos de diferentes casos representativos de cada una de las valoraciones.

Melan-A Control Local valoración técnicos



Melan-A Control Local valoración patólogos



Immunotinción óptima:

Suprarrenal. Usando el clon A103, tinción citoplasmática granular en las células adrenales corticales. Ausencia de tinción con cualquier otro anticuerpo.

Melanoma. Tinción citoplasmática moderada o intensa en la mayoría de las células neoplásicas.

Riñón. Ausencia de tinción.

En todos los casos, con una adecuada relación entre la intensidad de inmunoexpresión y el contraste empleado y con un mínimo o ausente artefacto tanto en la técnica inmunohistoquímica (degradación del tejido por sobrecalentamiento, tinción de fondo) como en la 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:

Anticuerpo primario

Clon A103, Dako	40
Coctel MC-7C10+M2-9E3, MD	10
Clon A103, Novocastra	8
Clon A103, Roche	5
Coctel HMB45+MC-7C10+M2-9E3+T311, Biocare	3
Clon MC-7C10, MD	1
Clon A103, DBS	1
Clon PNL2, Roche	1

Método visualización

EnVision	42
Ultraview	9
Bond Max	9
MasVision	6
EnVision Linker	2
Optiview	1

Pretratamiento

PT	44
Ventana	10
Bond	9
Olla	1
Enzimático	1
No	1

Automatización

Autostainer	44
Benchmark	11
Bond	11

Mejores resultados obtenidos:

- Un centro puntuado 20/20 en el control GCP y en el control local:
Anticuerpo concentrado Dako A103, dilución 1:50
Pretratamiento Bond
Sistema de visualización Fast Red Bond
Sistema de automatización Bond
- Tres centros puntuados 19/20 en el control GCP y en el control local:
Anticuerpo prediluido Dako A103
Pretratamiento PT link pH alto
Sistema de visualización EnVision
Sistema de automatización Autostainer

Comentarios:

Melan A, antígeno de diferenciación melanocítica, es una proteína de 20-22 kDa asociada al retículo endoplásmico y a los melanosomas. Se expresa en los melanocitos normales y en la retina y su función es por el momento desconocida.

El clon A103 muestra además reacción cruzada con las células productoras de hormonas esteroideas, es decir, en el cortex adrenal, en las células de la teca ováricas y en las células de Leydig testiculares.

Melan A se expresa en el 80-100% de los melanomas malignos. En los melanomas metastásicos la expresión de Melan A puede ser focal y menos positiva que en los correspondientes tumores primarios. En el melanoma desmoplásico la expresión suele ser focal o negativa. También expresan Melan A los nevus cutáneos, nevus Spitz, nevus azul.

Otros tumores de origen o diferenciación melanocítica también muestran positividad para Melan A, como el sarcoma de células claras, neurofibroma melanótico, schwannoma melanocítico y pecoma.

Melan A es un marcador muy útil en el diagnóstico del melanoma y debe ser incluido en el panel inmunohistoquímico de esta patología. También es útil para confirmar la diferenciación melanocítica de tumores primarios cutáneos y distinguirlos del neurotecoma y el histiocitoma fibroso maligno.

En los casos en los que el pigmento melánico pueda dificultar la identificación de la positividad inmunohistoquímica se recomienda el uso de contratinción con giemsa en lugar de hematoxilina, o bien el uso de fosfatasa alcalina o fast red en lugar del cromógeno DAB.

Un control adecuado es la piel normal, en la que todos los melanocitos deben ser intensamente positivos en citoplasma. Si se usa el clon A103, la glándula adrenal es un control apropiado, en la que las células epiteliales corticales deben mostrar intensa positividad granular citoplasmática

Bibliografía:

- <http://www.nordiqc.org/Epitopes/melan-a/melan-a.htm>
- Busam KJ. The use and application of special techniques in assessing melanocytic tumours. *Pathology*. 2004 Oct;36(5):462-9.
- Orosz Z et al. Melan-A/Mart-1 expression in various melanocytic lesions and in non-melanocytic soft tissue tumours. *Histopathology* 1999,34:517-525.
- Busam KJ, et al. Immunoreactivity for A103, an antibody to Melan-A (Mart-1), in adrenocortical and other steroid tumors. *Am J Surg Pathol* 1998;22:57-63.
- Jungbluth AA, et al. An anti melan-A monoclonal antibody for the detection of malignant melanoma in paraffin embedded tissues. *Am J Surg Pathol* 1998;22:595-602.