

# Análisis de Resultados

## Programa de Garantía de Calidad en Patología Módulo de Patología Molecular “*Mirando al Gen*”, Ronda 10 bRaf

### Objetivo

Parte del módulo de Patología Molecular, dentro del Programa de Garantía de Calidad en Patología, se ha diseñado para evaluar las distintas etapas relacionadas con la determinación de mutaciones en el gen *Braf* (RONDA 10-2014), incluidas tanto la fase pre-analítica como post-analítica (interpretación de resultados).

### Participantes

Los laboratorios interesados pudieron registrarse a través de la página web de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP). Número de laboratorios participantes: 38 laboratorios han remitido los resultados correspondientes al análisis de bRaf.

### Esquema del programa de control de calidad

Desde la SEAP se remitió a los laboratorios participantes cuatro secciones sin teñir, con un grosor de 6µm, de tejido fijado en formol e incluido en parafina de 4 melanomas que podían ser portadores de mutaciones en el gen bRaf. Cada cristal se identificó de forma clara con el número correspondiente a la muestra y el número correspondiente a la sección.

Con el objeto de distribuir de forma equitativa las distintas secciones cortadas de cada muestra a cada uno de los laboratorios participantes, se siguió el siguiente esquema de corte, evitándose de esta forma que un mismo laboratorio recibiera siempre las primeras o últimas secciones de cada muestra. Inicialmente se estimó la participación de 45 laboratorios y se prepararon muestras según este cálculo.

### Modulo Patología Molecular GCP Ronda 10

El resultado esperable de cada caso se realizó tras analizar las muestras por 3 metodologías: SANGER, COBAS y Genómica, con resultados coincidentes.

Cada laboratorio participante debía realizar la determinación de mutaciones en el gen *BRAF* en dichas muestras, utilizando para ello los protocolos habituales en su práctica clínica. Con el fin de valorar el porcentaje de celularidad tumoral de las muestras remitidas, se solicitó que una de las secciones remitidas fuera teñida con hematoxilina y eosina, para que pudiera ser revisada, pudiéndose emplear el resto de secciones para realizar la determinación.

El envío de los resultados debía realizarse de forma anónima, utilizándose como identificador el número asignado a cada laboratorio al inicio de la ronda de control de calidad. Cada laboratorio debía remitir por vía electrónica ([calidad@seap.es](mailto:calidad@seap.es)) la siguiente documentación:

- Genotipo y porcentaje de celularidad tumoral de cada una de las muestras analizadas.
- Formulario con la información solicitada relativa a las distintas etapas del análisis de mutaciones en el gen BRAF.

- Informe con los resultados del análisis para cada muestra (tomando como modelo el informe que, de forma habitual, se remite al médico que solicita la determinación de mutaciones).
- Resultados analíticos sin interpretar en los que se basa el genotipo establecido

## Recepción de resultados

Tras la recepción de los resultados se comprobó que 38 de los laboratorios participantes enviaron la información solicitada.

## Métodos de análisis

La información relativa al método de extracción de ADN y a la metodología empleada para la determinación de mutaciones en el gen *BRAF* fue remitida por 36 laboratorios. En relación a la metodología para la extracción de ADN, destaca que de forma mayoritaria, los laboratorios optan por kit comercial.

En cuanto al método de detección de mutaciones 9 laboratorios emplearon secuenciación directa, 3 pirosecuenciación, 9 utilizaron PCR cuantitativa en tiempo real alelo-específica (Cobas).

## Resultados

### GENOTIPO

38/38 laboratorios identificaron correctamente el genotipo de las muestras enviadas (100%). La muestra 1 tenía muy escasa representación tumoral (0-8%), no mutada. Era importante que los laboratorios valoraran adecuadamente esta celularidad y fue así en todos los casos excepto 3 laboratorios que reportaban una celularidad de 25, 50 y 70%. Clasificar la muestra como no válida para estudio molecular (5 laboratorios) era evidentemente una opción correcta en este caso. El resto de las muestras portaban mutación que fue identificada correctamente por el 100% de los laboratorios..

### INFORME

La valoración de los informes pudo realizarse en los laboratorios participantes que enviaron la documentación oportuna.

Los puntos considerados para la emisión de un informe son los siguientes:

- Título del informe
- Datos de contacto del médico solicitante
- Identificador del laboratorio responsable de la prueba (datos de contacto)
- Fecha de recepción de la muestra
- Identificador de la muestra
- Fecha del informe
- Firma del responsable de la determinación
- Número de páginas
- Motivo/justificación del análisis
- Tipo de muestra
- Porcentaje de celularidad tumoral
- Método de análisis empleado
- Especificaciones relativas a especificidad y sensibilidad del método de análisis empleado.
- Resultado: genotipo
- Nomenclatura correcta de mutaciones
- Interpretación de los resultados
- Valoración de los resultados según contexto clínico
- Número de casos analizados año
- Porcentaje de mutaciones obtenidas

**Celularidad tumoral:**

Es importante para utilizar técnicas con sensibilidad adecuada al porcentaje de células tumorales. Determinar la celularidad tumoral es especialmente importante para los laboratorios que emplean secuenciación directa que requiere una población tumoral (tras macro o microdissección) superior al 50%. Si se obtiene un resultado negativo en una muestra con celularidad < 50% si empleamos Secuenciación o <10% si empleamos PCR alelo específica, debe añadirse un comentario diagnóstico de que la muestra podría ser poco representativa y debe repetirse el estudio si se dispone de nueva muestra.

**Tipo de laboratorios:**

La mayoría de los laboratorios que especificaron su filiación hacían la determinación en Anatomía Patológica (33/38), la mayor parte en instituciones públicas. 9 laboratorios tenían la certificación ISO 9001 y 2 la acreditación 15189.

**Conclusiones:**

**Se mejoran resultados con respecto a rondas anteriores, sin falsos positivos ni negativos.**