



**SEAP**  
Calle Ancora, 3, 2º B  
28045 MADRID  
Tfno. y Fax 91 539 86 28  
MAIL: [SEAP@SEAP.ES](mailto:SEAP@SEAP.ES)



Programa de Garantía de  
Calidad en Patología

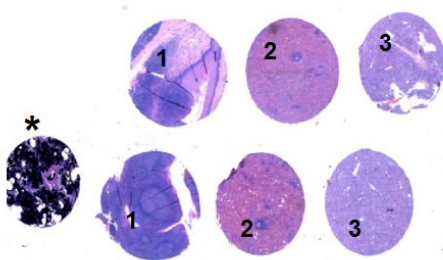
## Módulo de PATOLOGÍA LINFOIDE.

### Ronda nº 29.

**Antígeno probado:** CD 56.

**Tejido probado:** Matriz de tejido

1. Amígdala reactiva (48h)
2. Bazo reactivo (48h)
3. Hígado Fetal (48h)



\* Marcador Pulmón

### **Instrucciones:**

Los participantes fueron invitados a teñir con anticuerpo CD56 la preparación remitida por el programa (array que incluye: Amígdala reactiva 48h; Bazo reactivo 48h; Hígado fetal 48h); y su propia preparación control, devolviendo ambas preparaciones para su evaluación.

## **CD56.**

CD56 (molécula de adhesión celular neuronal, NCAM) es una glicoproteína de adhesión con cinco dominios de tipo inmunoglobulina extracelular seguido de dos repeticiones de fibronectina de tipo III. La diversidad estructural se introduce por corte y empalme alternativo. Se han identificado múltiples isoformas (incluyendo transmembrana y formas ancladas GPI), generadas por splicing alternativo de un único gen localizado en el cromosoma 11. Las tres isoformas principales son de 120 kDa, 140 kDa, y 180 kDa. La isoforma de 140 kDa se considera el marcador de superficie celular prototípico en células natural killer (NK).

CD56 desempeña un papel en las interacciones célula-célula y la adhesión célula-matriz a través de interacciones hemofílicas y heterófilas. También juega un papel importante en el desarrollo neuronal, tanto en la embriogénesis como en adultos.

### **Expresión en tejidos normales.**

CD56 se expresa ampliamente en células del sistema nervioso central, los nervios periféricos y los músculos esqueléticos, en la mayoría de los tipos de células neuroendocrinas y diversos epitelios. El anticuerpo CD56 también marca células foliculares tiroideas, células tubulares, y células del estroma de ovario.

En el sistema hematopoyético, CD56 es el marcador de las células NK en un 80-90%, aunque también está presente en células T.

### **Expresión en tejidos neoplásicos.**

CD56 se expresa positivamente en la leucemia mieloide aguda y crónica, tumores estromales de los cordones sexuales del ovario, tumor de Wilms, neuroblastoma y ganglioneuroblastoma, feocromocitoma/paraganglioma, astrocitoma, oligodendroglioma, epéndimoma, meningioma, schwannoma, sarcoma sinovial, condrosarcoma mesenquimal, osteosarcoma, rhabdomyosarcoma y tumor desmoplásico de células pequeñas.

CD56 se encuentra en la mayoría de los casos NK, linfomas T NK (nasales y de tipo nasal NK, linfomas de células T, leucemia agresiva de células NK, linfoma, NK blástica de la leucemia), mieloma múltiple y mesoteliomas. Muchos otros tipos de carcinoma, sarcoma y linfoma muestran positividad CD56 en menor número de casos.

CD56 se expresa negativamente en tumores de células granulares, tumor fibroso, fibromatosis juvenil, leiomioma vascular, histiocitoma fibroso, neurofibroma, dermatofibrosarcoma protuberante y angiosarcoma.

## **Interpretación.**

CD56 se utiliza como marcador para los tumores neuroendocrinos, células NK, y células T NK. Se puede usar en el diagnóstico diferencial de linfomas de células NK frente a otros linfomas. Puede ser útil en la diferenciación de mieloma múltiple frente a plasmocitosis reactiva y de GMSI. Puede ser de utilidad en la diferenciación entre Schwannoma vs neurofibroma. Se ha demostrado útil en la identificación de los carcinomas de células pequeñas en el pulmón.

El patrón de tinción es fuertemente de membrana en las células neoplásicas del carcinoma de pulmón de células pequeñas. En células neuroendocrinas, fibras nerviosas y musculares, como en estómago el patrón de tinción es fuerte de membrana. En la amígdala, los linfocitos T adquieren una intensidad fuerte de membrana, mientras que los macrófagos e histiocitos muestran tinción de membrana leve-moderada.

## **Número de laboratorios participantes:**

Remitidos: 68

Evaluados: Control GCP 56 (82,35%).

Control Local 56 (82,35%).

**Anticuerpos Primarios y Métodos evaluados:**

<b>Proveedor.</b>	<b>Código.</b>	<b>Clon.</b>	<b>Dilución.</b>
Dako.	IR628 IS628	123C3 123C3	RTU RTU
MasterDiagnóstics.	MAD-000218QD	56C04	RTU
Novocastra.	RTU-CD56-IB6 NCL-CD56-504 PA0191	IB6 CD564 CD564	1/50, RTU 1/100 RTU
Biocare	164AA	BC56C04	RTU
Ventana	760-4596 790-4465	MRQ-42 123C3	RTU RTU
Cell Marque	-----	MRQ-42	RTU
Invitrogen	07-5603	123C3	1/100

**Recuperación antigénica.**

Benchmark CC1  
PT Module de Thermo Scientific  
PT Link de Dako con pH High  
PT Link de Dako con pH Low  
PT Link OMNIS Dako pH High  
Bond Max

### **Sistema de detección.**

Kit Envision Flex Dako.  
Kit Ultraview Universal DAB de Ventana.  
Kit Optiview DAB IHC de Ventana.  
Kit Bond Polymer Refine de Leica.  
Ultravision Quanto de Master Diagnostics.

### **Automatización.**

Autostainer Link 48 Dako.  
Autostainer Plus Link Dako.  
OMNIS Dako.  
Autostainer 480 Lab Vision.  
Benchmark XT.  
Benchmark Ultra.  
Bond Max.

### **Inmunotinción óptima:**

Se valoró como inmunotinción óptima aquella que mostraba un patrón celular con un porcentaje del 100% de células teñidas, con una adecuada relación entre la intensidad de la tinción y el contraste empleado, y con un mínimo o ausencia de artefactos de la técnica inmunohistoquímica como por ejemplo; la degradación del tejido por pretratamiento excesivo, tinción de fondo, tinciones inespecíficas,...

Se consideró una inmunotinción óptima la que mostraba un patrón de tinción predominantemente fuerte en la membrana celular de las células NK con sobreexpresión en el bazo.

### Guía utilizada para la evaluación:

Los criterios seleccionados por los asesores para una inmunotinción óptima fueron:

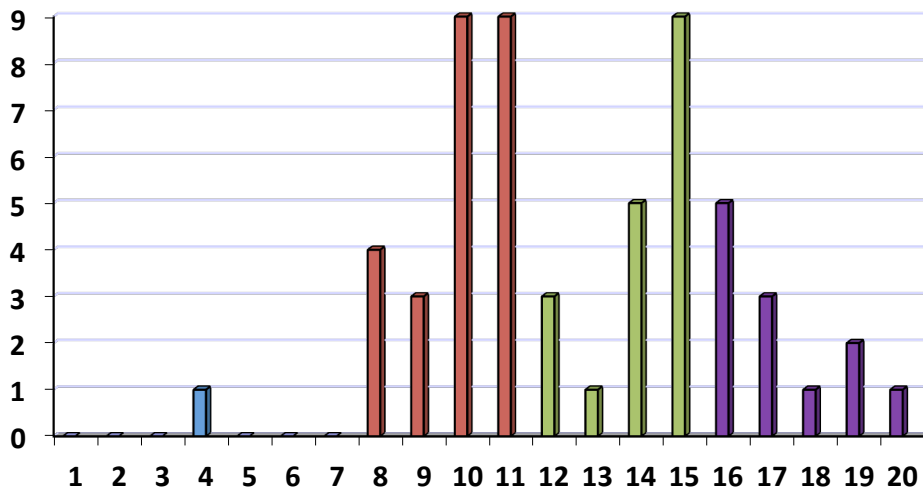
1. Tinción fuerte de membrana en células neuronales.
2. Tinción fuerte de membrana en células NK interfoliculares en la amígdala a 10x.
3. Sobreexpresión de membrana en células del bazo.
4. Ausencia de tinción de fondo y buena calidad técnica.

Cada uno de los cuatro asesores asignó una puntuación de 0 a 5, dando la suma de todas ellas una puntuación entre 0 y 20. La puntuación de 0 a 5 se asignó con los siguientes criterios:

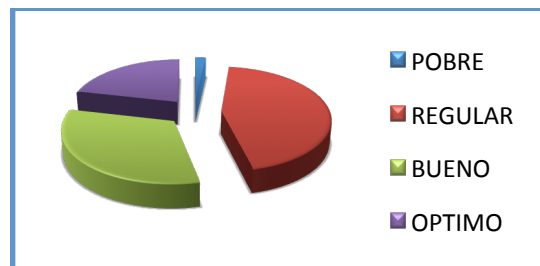
<b>Puntuación.</b>	<b>Patrón de tinción.</b>
0	Preparación no remitida./ Técnica no requerida.
1	Ausencia de tinción.
2	Tinción insuficiente.
3	Tinción moderada en 30% de las células en la amígdala. Tinción de membrana en células del bazo.
4	Tinción moderada de membrana en el 50% de las células en la amígdala. Tinción fuerte de membrana en células del bazo.
5	Tinción predominantemente fuerte de membrana en el 100% de células en amígdala a 10x, con sobreexpresión en células del bazo y ausencia de tinción de fondo. Buena calidad técnica.

## Estudio de los controles remitidos en el programa GCP:

Se remitió a cada centro una preparación con corte de un array. El array constaba de: Amígdala reactiva (48h), Bazo reactivo (48h), Hígado fetal (48h). El resultado de la evaluación para la inmunotinción de CD56 fue:



PUNTUACIONES DE LOS ASESORES.



Si consideramos tinción aceptable una puntuación igual o superior a 12/20, el 53,57% (30) de las preparaciones remitidas obtuvieron ésta puntuación. Si consideramos tinción óptima una puntuación igual o superior a 16/20, el 21,42% (12) de las preparaciones remitidas obtuvieron ésta puntuación.

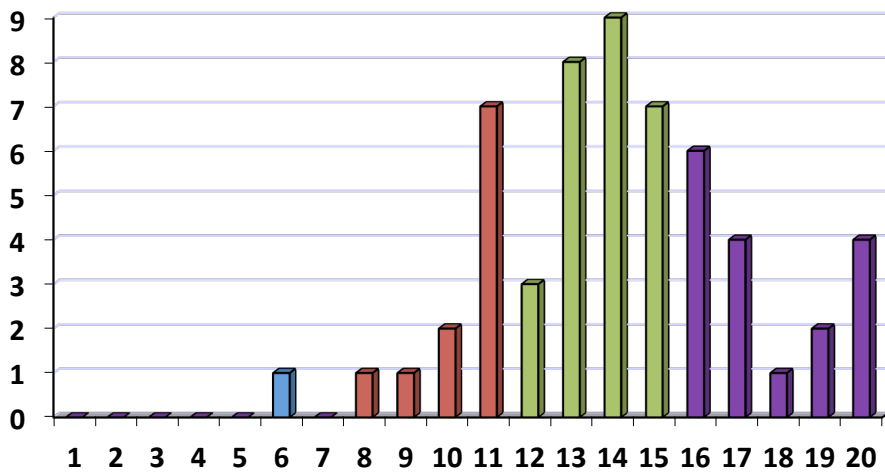
El 46,42% (26) de las preparaciones remitidas no obtuvieron una calidad suficiente para considerar que la técnica de CD56 pueda aplicarse de manera rutinaria.

Las preparaciones evaluadas han evidenciado, mayoritariamente, unas tinciones débiles debido a un pretratamiento inadecuado

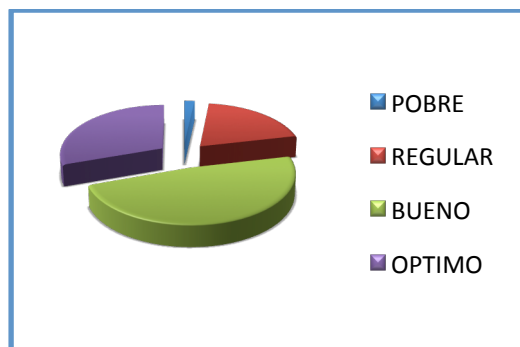
### **Estudio de los controles locales:**

Los controles locales recibidos correspondían en su mayoría a preparaciones con corte de apéndice (15) y preparaciones de amígdala (13). También se recibieron controles de páncreas (7), colon (5); y en menor número se recibieron preparaciones de pleura (2), intestino (2), hueso (1), duodeno (1), hígado (1), tiroides (1), cerebro (1), estómago (1), paraganglioma (1), partes blandas (1) y array de varios tejidos (1).

El resultado de la evaluación de CD56 fue:



PUNTUACIONES DE LOS ASESORES.



Si consideramos tinción aceptable una puntuación igual o superior a 12/20, el 78,57% (44) de las preparaciones locales obtuvieron ésta puntuación. Si consideramos tinción óptima una puntuación igual o superior a 16/20, el 30,35% (17) de las preparaciones locales obtuvieron ésta puntuación.



El 21,42% (12) de las preparaciones locales no obtuvieron una calidad suficiente para considerar que la técnica de CD56 pueda aplicarse de manera rutinaria.

**Mejores métodos:**

Obtuvo una puntuación de 20/20 en el control GCP, la preparación:

Tipo de bloqueo.	Agua oxigenada.
Recuperación antigénica.	CC1, 16min.
Tampón y ph.	----
Anticuerpo primario.	Ventana 760-4596 (clon MRQ42), RTU 16 min. 36·C
Método de visualización.	Optiview Detection Kit
Cromógeno.	Optiview DAB. Ventana
Automatización.	Benchmark Ultra de Roche.

Obtuvo una puntuación de 19/20 en el control GCP, la preparación:

Tipo de bloqueo.	-----
Recuperación antigénica.	si
Tampón y ph.	-----
Anticuerpo primario.	Ventana (clon MRQ42) RTU 40 min. 36·C +Amplificación
Método de visualización.	-----
Cromógeno.	-----
Automatización.	Benchmark Ultra

Obtuvo una puntuación de 20/20 en el control local, la preparación:

Tipo de bloqueo.	Peroxidasa Blocking.
Recuperación antigénica.	Si.
Tampón y ph.	pH High.
Anticuerpo primario.	Dako IR628 (clon 123C3), RTU 20 minutos, 32·C.
Método de visualización.	Envision+ Mouse Linker 10 min., Dako.
Cromógeno.	DAB, Dako.
Automatización.	OMNIS Dako

Obtuvo una puntuación de 18/20 en el control local, la preparación:

Tipo de bloqueo.	Peroxidasa blocking.
Recuperación antigénica.	PT-Link 20 min. 95·C
Tampón y ph.	pH 9
Anticuerpo primario.	Dako IR628(clon 123C3) RTU 25 min.
Método de visualización.	Envision, Dako.
Cromógeno.	DAB Dako.
Automatización.	Autostainer Link 48,Dako.

## Comentarios:

El análisis de los resultados pone de manifiesto que en los cortes GCP, algunos laboratorios participantes (26) consiguieron una valoración menor a 12/20, y lo mismo ocurre en los controles locales (12).

Existe una diferencia entre la valoración de los asesores y la valoración técnica/patólogo. Los asesores valoran las señales en las células NCAM y la sensibilidad proliferativa linfoide. También valoran una buena intensidad de señal en el 100% de células y una excelente calidad técnica.

Las preparaciones GCP y Local con resultado menor al aceptable mostraban problemas de intensidad de señal, exceso de tinción de fondo y contraste.

Un factor a tener en cuenta es la recuperación antigénica, obteniendo buenos resultados con una solución de pH alto. Los sistemas de amplificación son una gran ayuda en la mejora de la intensidad de la señal.

Si comparamos las valoraciones CD56 de ésta ronda 29 con las valoraciones de las rondas 17 y 27, observamos:

<b>Ronda 17</b>	<b>GCP</b>	<b>&lt;12</b>	<b>34,4%</b>	<b>12/20</b>	<b>65,6%</b>	<b>16/20</b>	<b>37,5%</b>
	<b>LOCAL</b>	<b>&lt;12</b>	<b>16%</b>	<b>12/20</b>	<b>84%</b>	<b>16/20</b>	<b>55%</b>
<b>Ronda 27</b>	<b>GCP</b>	<b>&lt;12</b>	<b>52,8%</b>	<b>12/20</b>	<b>47,16%</b>	<b>16/20</b>	<b>20,75%</b>
	<b>LOCAL</b>	<b>&lt;12</b>	<b>28%</b>	<b>12/20</b>	<b>72%</b>	<b>16/20</b>	<b>26%</b>
<b>Ronda 29</b>	<b>GCP</b>	<b>&lt;12</b>	<b>46,42%</b>	<b>12/20</b>	<b>53,57%</b>	<b>16/20</b>	<b>21,42%</b>
	<b>LOCAL</b>	<b>&lt;12</b>	<b>21,42%</b>	<b>12/20</b>	<b>78,57%</b>	<b>16/20</b>	<b>30,35%</b>

La comparativa entre las tres rondas demuestra que las valoraciones fueron mejores en la ronda 17 que en la ronda 27 y 29.

En la Ronda 29 se pone de manifiesto:

- una mejora en las puntuaciones con respecto a la ronda anterior.
- se detecta un aumento en las puntuaciones 12/20 y 16/20
- disminuyen los centros con puntuaciones <12.

Los asesores observamos:

- una gran variedad de controles elegidos, algunos de los cuales no son los más idóneos para optimizar la técnica
- una relajación en la optimización de las técnicas con respecto a los avances tecnológicos.

A la vista de los resultados, se recomienda el uso de control más discriminativo para alcanzar la suficiente sensibilidad para su uso en esta área diagnóstica (patología linfoide).

## **Referencias:**

1. Figarella-Branger D, Lepidi H, D Gambarelli, Bianco N, Rougon G, Pellisier JF. Differential expression of cell adhesion molecules (CAM), neural CAM and epithelial cadherin in ependymomas and choroid plexus tumors. *Acta Neuropathol.* 1995;89(3):248-57. PubMed PMID:7754745
2. Kremer M, Ott G, Nathrath M, Specht K, Stecker K, Alexiou C, Quintanilla-Martinez L, Fend F. Primary extramedullary plasmacytoma and multiple myeloma; phenotypic differences revealed by immunohistochemical analysis. *J Pathol* 2005 Jan;205(1): 92-101. PubMed PMID:15586381
3. Lanza F, Bi S, Castoldi G, Goldman JM, Abnormal expression of N-CAM (CD56) adhesion molecule on myeloid and progenitor cells from chronic myeloid leukemia 1993 Oct;7(10):1570-5. PubMed PMID:7692192  
Herman GE and Elfont E. Aberrant CD45 (leukocyte common antigen) staining of non-malignant breast lesions, in zinc formalin fixed tissue. *J Histotechnol* 1993;16:151-3