



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 LINFOIDE

Ronda nº 28

Antígeno probado: CD10

**1.-Instrucciones:** Los participantes fueron invitados a teñir con anticuerpo anti-CD10, la preparación remitida por el programa, además de la preparación utilizada como control local en cada laboratorio o centro.

El control remitido por el programa estaba compuesto de las siguientes muestras:

- Linfoma de Hodgkin (24 horas de fijación)
  - Hígado fetal (48 horas)
  - Amígdala reactiva (48 horas)
- Pulmón: como marcador de plantilla

### **2.- Información relacionada con CD10:**

Se expresa en la superficie de una amplia variedad de células normales y neoplásicas.

Está presente en las células leucémicas de fenotipo pre-B, que representan al 85% de los casos de LLA. En células linfoblásticas, así como en linfomas de Burkitt y foliculares.

El antígeno CD10 se expresa en células progenitoras linfoides precoces normales, en linfocitos B inmaduros dentro de la médula ósea de adultos y en linfocitos B del centro germinal.

En los tejidos linfoides no neoplásicos, se expresa intensamente en las células de los centros foliculares (foliculos secundarios) y en los endotelios vasculares, con un patrón de tinción de membrana con variable difusión a citoplasma.

También se expresa en diversas células y tejidos no linfoides, tales como las células mioepiteliales de mama, fibroblastos, conductillos biliares, epitelocitos intestinales, así como en los túbulos proximales y en el epitelio glomerular del riñón, entre otros.

### **3.- Guía utilizada para la evaluación:**

Los criterios para considerar óptima la expresión de CD10 en el control GCP fueron los siguientes:

Expresión intensa y bien definida de membrana, en las células centro foliculares de la amígdala incluida en el control y de los endotelios vasculares. Positividad en los canalículos biliares del hígado fetal.

En todos los tejidos se valoró la ausencia de fondo o tinción inespecífica, así como la ausencia de artefactos técnicos, en especial la ausencia de degradación del tejido por sobrecalentamiento.

Cada evaluador concedió una puntuación entre 0 y 5, lo que daba una puntuación total entre 0 y 20 puntos.

Puntuación	Patrón de tinción
0/No remitido	No remisión de preparación
1	Ausencia de tinción significativa
2	Expresión insuficiente de células diana
3	Expresión de membrana en células diana, suficiente para diagnóstico, aunque mejorable en intensidad o artefactos
4	Se observa expresión de células diana a 20x
5	Expresión óptima a 4x de células centrofoliculares de la amígdala, ausencia de fondo.

#### 4.-Número de laboratorios participantes:

Remitidos: 68

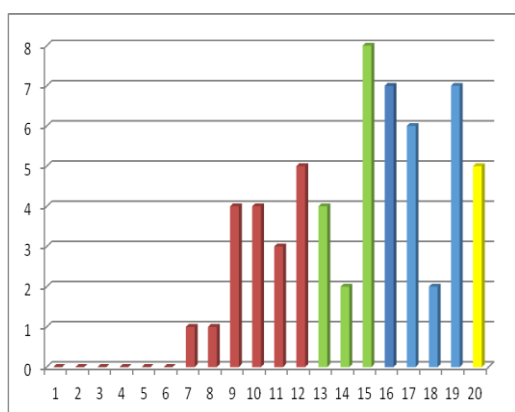
Contestados: 59 (control SEAP) 87%, 57 (control local) 84%

#### 5.- Resultados:

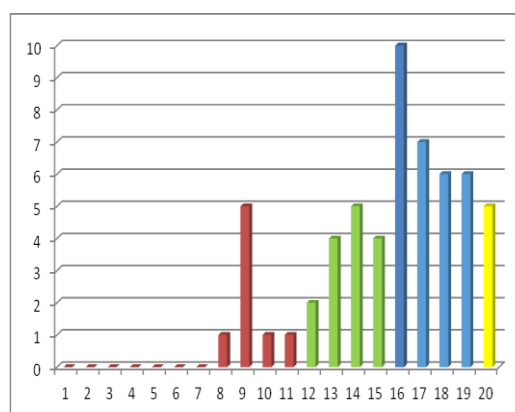
Los valores obtenidos tanto en el control remitido por el programa GCP así como en los controles locales enviados por cada participante, quedan reflejados en Tabla (nº1) y en las graficas (1a y 1b)

RONDA 28				
Valoración	datos control GCP		datos control LOCAL	
	Nº	%	Nº	%
<12	13	22%	8	14%
≥ 12	46	78%	49	86%
≥ 16	20	37%	34	60%
20	5	8%	5	9%

Tabla 1: Resultados por categorías, nº absoluto y %.



Gráfica 1a: Valoraciones control GCP



Gráfica 1b: Valoraciones control local

La puntuación igual o superior a 12 se considera aceptable para diagnóstico.

El 78% de las preparaciones remitidas del control GCP y el 86% de los controles locales se consideraron aceptables.

El 22%(control GCP) y 14%(control local) de los centros participantes, no superan la tinción óptima en el control GCP, en dichos casos se incluye en el informe individual que se envía a cada laboratorio, las incidencias observadas.

En los casos con menor puntuación, destacan desde una tinción de fondo ligera, tinción irregular y artefactos técnicos, además de una débil e insuficiente expresión antigénica.

## 6.- Controles

Los controles locales remitidos han sido mayoritariamente controles normales:

- Amígdala no neoplásica (34 centros)
- Apéndice (3)
- Ganglio (5): 4 linfomas foliculares y 1 linfoma de Burkitt
- Mama tumoral (2)
- Piel (2)
- Pulmón (1)
- Riñón (4): 3 normal y 1 carcinoma renal de células claras
- Timo (1)
- Utero (1). Leiomioma
- Multitejido linfoide (1)

## 7.- Métodos utilizados

En lo referente a protocolos utilizados, los datos que se incluyen a continuación corresponden a los aportados por cada centro.

### 7.1.-Anticuerpo Primario y proveedores:

Los clones utilizados han sido 56C6 de diferentes casas comerciales y SP67 de ROCHE.

En la siguiente tabla queda reflejado el nº de laboratorios y la casa comercial utilizada.

CLON	Nº LAB.	PROVEEDOR
SP67	17	ROCHE
56C6	14	DAKO
56C6	8	MASTER DIAGNOSTICA
56C6	3	LEICA
56C6	1	BIOCARE
56C6	1	BIOSISTEM-ATOM
56C6	1	MENARINI
56C6	4	NOVOCASTRA
56C6	1	PALEX
56C6	1	VECTOR
SIN DATOS	7	

Tabla 2: casas comerciales, clones y nº de centros

### 7.2.-Recuperación antigénica

La mayoría de los centros han utilizado Recuperación Antigénica por calor, en PT link (22 centros), En los sistemas incluidos en inmunotegridad: Benchmark (14) y Bond (5) OMNIS (1).

2 laboratorios utilizaron digestión enzimática con posterior tratamiento con calor.

En cuanto a los tampones utilizados fueron: Citrato 10 mM a diferente pH, Tris-EDTA pH 8-9 y EDTA pH 8.

### 7.3.-Sistemas de Detección

Los Sistemas de Visualización utilizados para demostrar CD10, fueron:

Sistemas de Visualización	
EnVision	17
MasVision	1
Bond Polymer Refine System	7
Optiview	3
Ultraview	9
Ultravision Quanto	2

Tabla 3: Sistemas de Detección y nº de centros

#### 7.4.-Automatización

Los inmunoteñidores utilizados fueron los siguientes:

- Dako Autostainer (16)
- Lab Vision Autostainer (3)
- Ventana Benchmark (21)
- Bond Max Vision Biosystems (7)
- OMNIS de DAKO (1)

#### 8.- Resultados de la autoevaluación:

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

El 90% de los técnicos y el 94% de los patólogos participantes remitieron su valoración de los controles locales y del control del GCP.

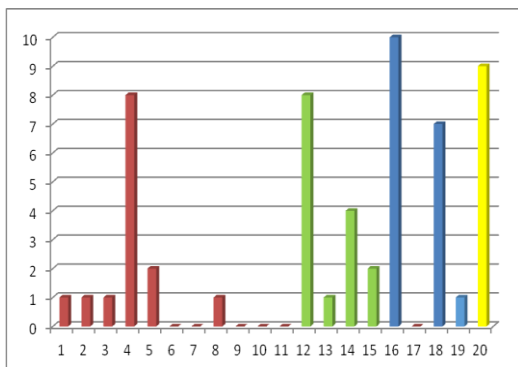
Se han recibido 56 autoevaluaciones, de las cuales, el 75% considera válida para diagnóstico la técnica realizada para la determinación de CD10 por inmunohistoquímica.

El resumen de dichos resultados queda reflejado en la tabla siguiente

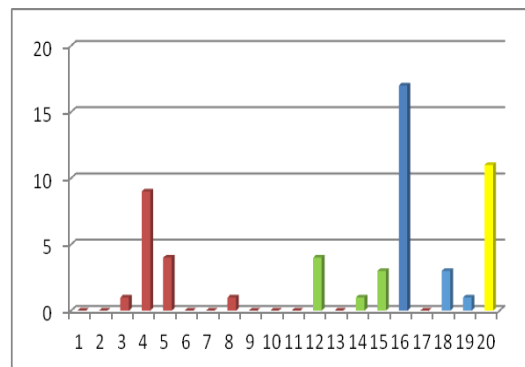
AUTOEVALUACIÓN				
CTRL GCP			CTRL LOCAL	
Valoración	Nº	%	Nº	%
<12	14	25%	15	27%
≥ 12	42	75%	40	73%
≥ 16	27	48%	32	58%
20	9	16%	11	20%

Tabla 4: Resultados de Autoevaluación

Los resultados de las autoevaluaciones se reflejan en las siguientes gráficas:



Gráfica 2 a : Autoevaluación en control GCP



Gráfica 2 b: Autoevaluación en control local

## 9.- Protocolos de los mejores resultados:

### Método 1: (1 centros, 20/20 control GCP)

- Automatización: OMNIS Dako
- Recuperación antigénica con calor: Tris-EDTA pH: 9
- Anticuerpo primario: 56C6 de DAKO (RTU) 12min30 seg T<sup>a</sup>:32°.
- Método de detección: EnVision

### Método 2: (3 centros, 20/20 control GCP) (4 centros control local)

- Automatización: Autostainer-Link Dako
- Recuperación antigénica con calor en modulo PT LINK: Tris-EDTA pH: 9
- Anticuerpo primario: 56C6 de DAKO (RTU) 20 min RT.
- Método de detección: EnVision FLEX

### Método 3: (1 centro control GCP)

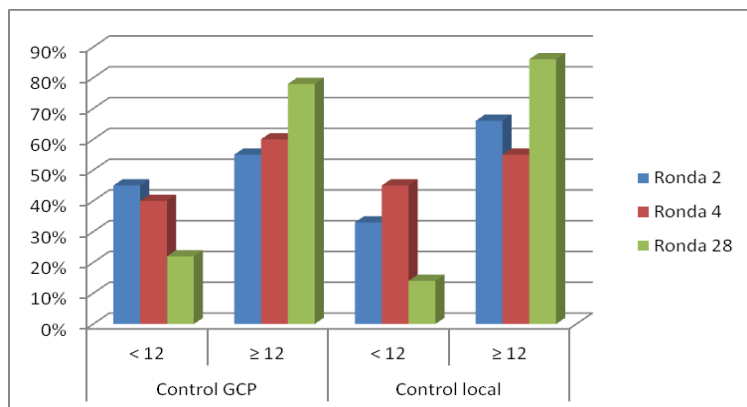
- Automatización: BenchMark XT
- Recuperación antigénica con calor ☹️ (sin más información)
- Anticuerpo primario: SP67 RTU
- Método de detección: HRP MULTIMER OPTIVIEW

### Método 4: (1 centro control local)

- Automatización: BenchMark ULTRA
- Recuperación antigénica con calor: CC1 40 min )
- Anticuerpo primario: SP67 RTU
- Método de detección: Roche OptiView DAB detection Kit

## 10.- Comentarios:

Se observan mejores resultados que en rondas previas, como se puede ver en la siguiente grafica 3.



Gráfica 3: Evolucion de resultados

El análisis de los resultados de inmunotinción con diversos equipos de tinción y sistemas de visualización muestra resultados de calidad óptimos para el diagnóstico, que pueden ser ajustados siguiendo las guías de los mejores protocolos incluidos en el apartado anterior.

En lo referente a la recuperación antigénica de CD10 se obtienen mejores resultados con Tris-EDTA o EDTA a pH entre 8-9.

Los mejores resultados obtenidos en los controles locales entendemos que se derivan de la adaptación de los protocolos a los controles específicos de cada centro.

En los informes individuales se indica, en algún caso concreto, que el control no es óptimo para ser utilizado como control externo de la técnica

#### 11.-Referencias:

- ❑ West RB, Warnke RA, Natkunam Y. The usefulness of immunohistochemistry in the diagnosis of follicular lymphoma in bone marrow biopsy specimens. *Am J Clin Pathol.* 2002 Apr;117(4):636-43.
- ❑ Iwaya K, Ogawa H, Izumi M, Kuroda M, Mukai K. Stromal expression of CD10 in invasive breast carcinoma: a new predictor of clinical outcome. *Virchows Arch.* 2002 Jun;440(6):589-93.
- ❑ Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (Eds.) WHO Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, IARC Press 2001.
- ❑ Bavikatty NR, Ross CW, Finn WG, Schnitzer B, Singleton TP. Anti-CD10 immunoperoxidase staining of paraffin-embedded acute leukemias: comparison with flow cytometric immunophenotyping. *Hum Pathol.* 2000 Sep;31(9):1051-4.
- ❑ Chu P, Arber DA. Paraffin-section detection of CD10 in 505 nonhematopoietic neoplasms. Frequent expression in renal cell carcinoma and endometrial stromal sarcoma. *Am J Clin Pathol* 2000 Mar;113(3):374-82.
- ❑ G. McIntosh y cols. *American Journal of Pathology.* 154(1): 77-82 (1999)
- ❑ [www.nordiqc.org/Epitopes](http://www.nordiqc.org/Epitopes)