



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

1ª RONDA

Antígeno probado: CD23

Tejido probado: Amígdala

Instrucciones: Los participantes fueron invitados a demostrar CD23 en las preparaciones proporcionadas

Número de laboratorios participantes:

- Remitidos: 75
- Contestados: 48

Guía utilizada para la evaluación: Cada uno de los cuatro asesores concedieron una puntuación entre 0 y 5, lo que daba una puntuación entre 0 y 20 puntos. La puntuación fue como sigue:

PUNTUACION	PATRON DE TINCION
0	No remisión de preparaciones
1-2	Tinción de membrana inferior de lo esperado, tanto en nº de células como en intensidad
3	Tinción esperada aunque focal
4-5	Tinción generalizada esperada

Otras variables que se han tenido en consideración han sido:

- Presencia de fondo
- Señal inespecífica
- Calidad global de la técnica (ausencia de burbujas, tinción irregular, efecto borde)
- Preservación de la muestra tras la recuperación antigénica.

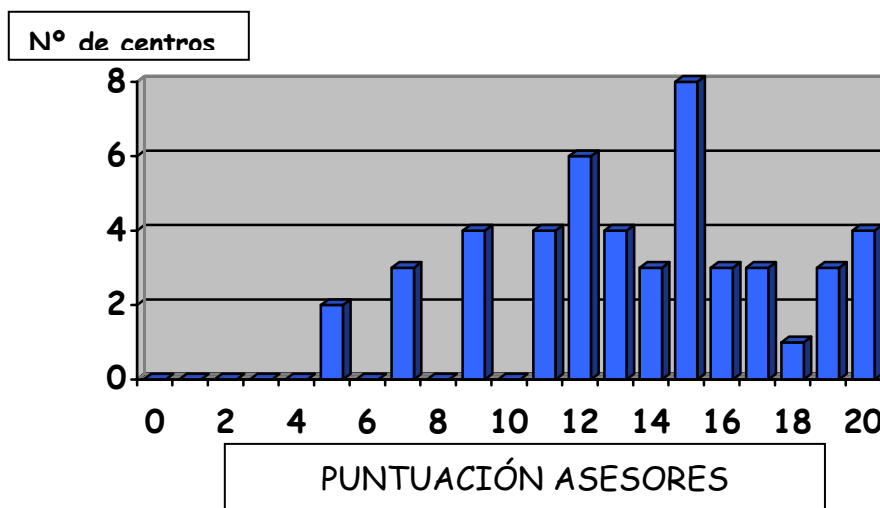
Inmunotinción óptima: Se ha considerado óptima cuando se pudo observar

1. Tinción membrana en células B y células dendríticas de los centros germinales de los folículos linfoides
2. Ausencia total de fondo
3. Buena técnica histológica

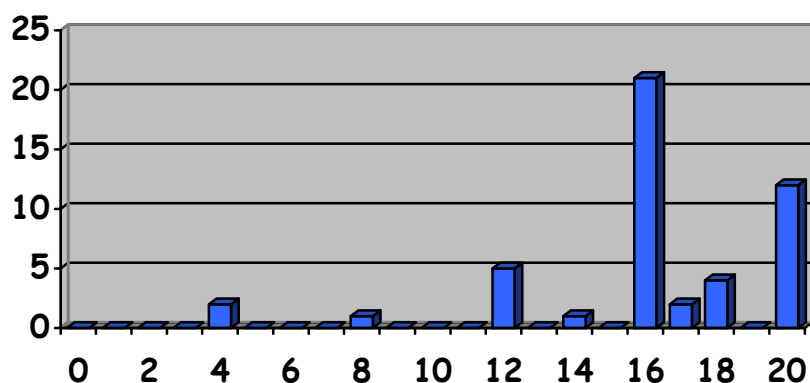
Resultados de la Evaluación

1.-Estudio de controles GCP de cada centro: Los participantes remitieron el control de amígdala reactiva aportado por el CGP e inmunoteñido para CD23.

El reparto de puntuación en los controles se puede apreciar en la siguiente tabla

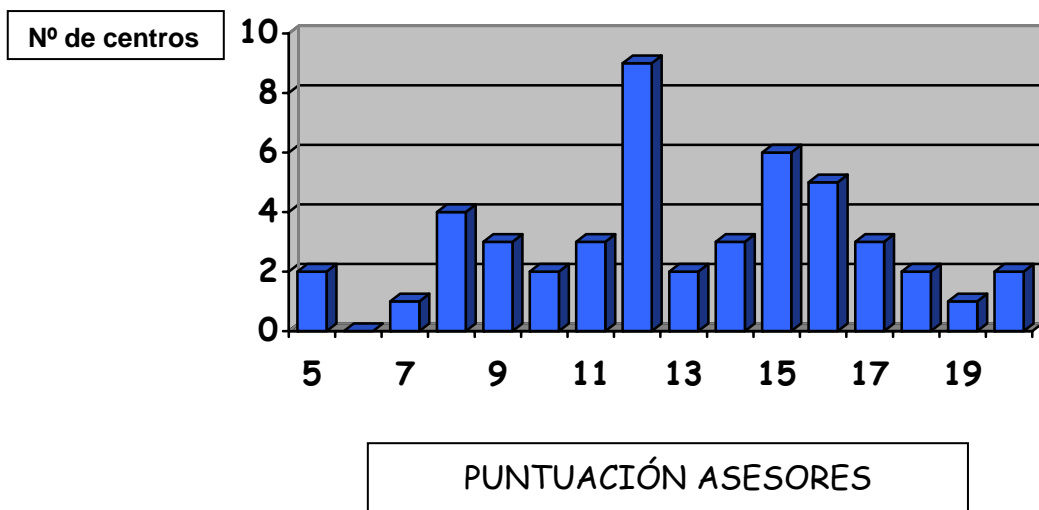


Considerando que una puntuación igual o superior a 12 se considera aceptable, El 73 % de las preparaciones remitidas se consideran aceptables, y el 29,2% con una valoración igual o superior a 16 consideradas como óptimas



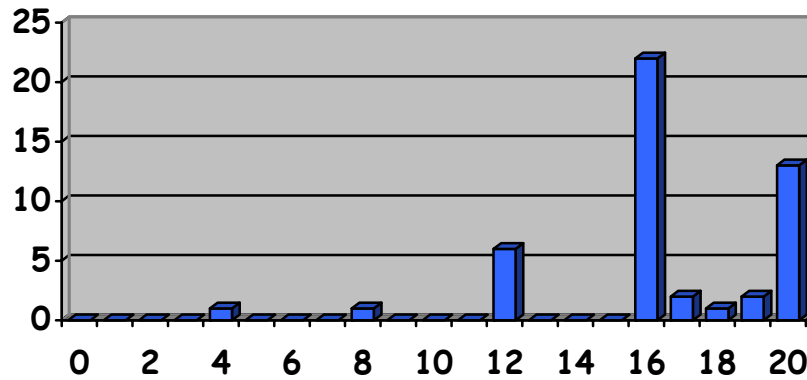
Valoración de la técnica por parte del técnico y patólogo de cada centro en el control aportado por GCP

2.- Estudio de controles locales de cada centro: Las puntuaciones otorgadas por el grupo de 4 asesores en esta 1ª Ronda de Patología Linfoide, en los controles locales remitidos han sido:



Teniendo en cuenta que una puntuación superior o igual a 12 se considera aceptable, el 68.7% de las preparaciones remitidas se consideraron aceptables para diagnóstico, obteniendo una valoración óptima (igual o superior a 16) el 27% de los participantes.

Nº de centros



Valoración de la técnica por parte del técnico y patólogo de cada centro en el control Local

Los controles locales aportados como control interno para CD23 fueron;

- Amígdala reactiva:38
- Adenopatía:1
- Ganglio linfático; 8
- Adenoide: 1

Los protocolos de los mejores métodos (puntuación de 20/20):

A)

- Método de Visualización: DakoCytomation Envision kit k5007
- Inmunoteñidor automático: DakoCytomation Autostainer
- Buffer y pH: Buffer DakoCytomation
- Bloqueo: H₂O₂
- Recuperación antigénica: Olla a presión FISSHER, 2 minutos en tampón Citrato pH 6.5
- Anticuerpo primario: Clon 1B12 de Novocastra, a dilución 1/40 durante 30 minutos a temperatura ambiente
- Cromógeno: Dako DAB K500 7, 5 minutos a temperatura ambiente

B)

- Método de Visualización: Kit Ventana
- Inmunoteñidor automático: Ventana- BENCHMARK
- Buffer y pH: Buffer: información no aportada
- Bloqueo: información no aportada
- Recuperación antigénica: información no aportada

- Anticuerpo primario: Clon 1B12 de Novocastra, a dilución 1/20 durante 32 minutos a 40 ° C
- Cromógeno: Kit Ventana

C)

- Método de Visualización: DakoCytomation LSAB-HRP K5001
- Inmunoteñidor automático: DakoCytomation TechMate 500
- Buffer y pH: Buffer DakoCytomation
- Bloqueo: H₂O₂
- Recuperación antigénica: Olla a presión, 2 minutos en tampón Citrato pH 6.5
- Anticuerpo primario: Clon MHM6 de DakoCytomation, a dilución 1/25 durante 40 minutos a temperatura ambiente
- Cromógeno: Dakocytomation DAB, 7,5 minutos a temperatura ambiente

D)

Sistema de Visualización: ABC de Ventana

Sin automatización

Buffer y pH: Información No aportada

Bloqueo: H₂O₂

Recuperación antigénica: por calor. Sin precisar mas información.

Anticuerpo primario: Master Diagnostico, clon SP23

Cromógeno: Ventana DAB.

Comentarios: En términos generales, los resultados indican una demostración de CD23 óptima para el diagnóstico. Siendo aconsejable revisar los mejores protocolos para aquellos laboratorios donde no fue del todo optima la valoración.

Los resultados de la Autoevaluación tienden a dar puntuaciones mayores, posiblemente derivados de obviar la calidad general de las preparaciones, teniendo en cuenta sólo la demostración del antígeno CD23.

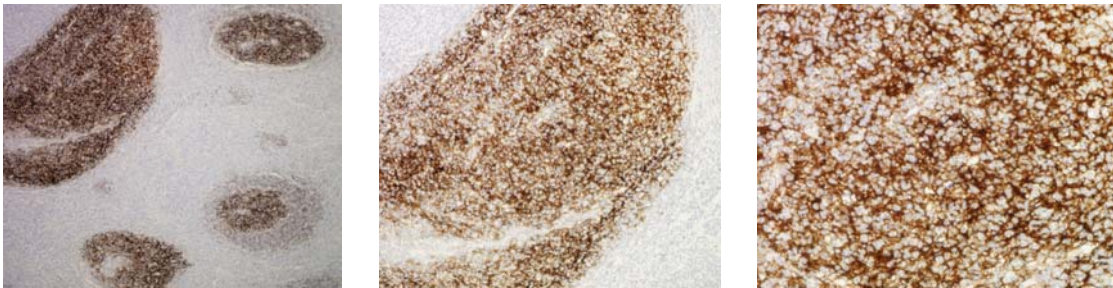
Los problemas mas frecuentes que se ha podido detectar han sido:

- Tinción adecuada pero de intensidad mejorable
- un exceso y defecto de pretratamiento antigénico
- heterogeneidad de tinción
- artefactos derivados de la capilaridad
- tinción focal
- débil reactividad

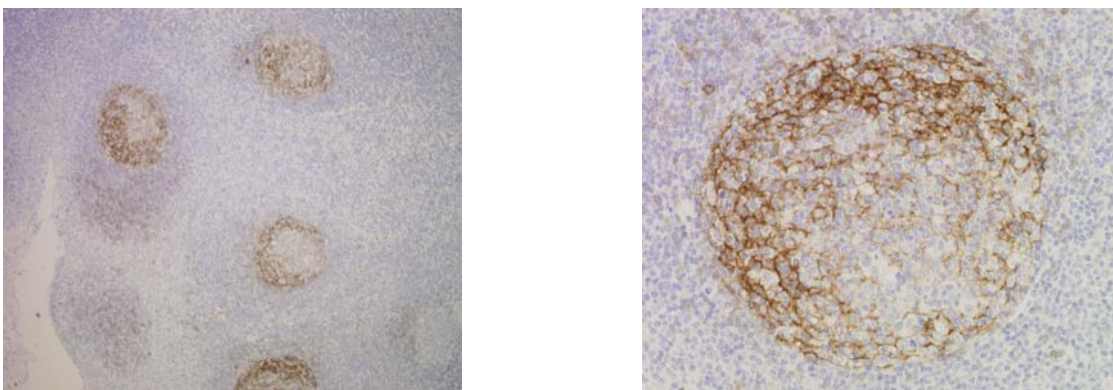
Sugerencias para disminuir los problemas o artefactos detectados:

- Ajustar los tiempos de fijación de las muestras
- Revisar los protocolos de desenmascaramiento antigénico
- Ajustar las diluciones y tiempos de incubación de los reactivos.
- Evitar que las preparaciones se deshidraten durante la técnica de inmunotinción.

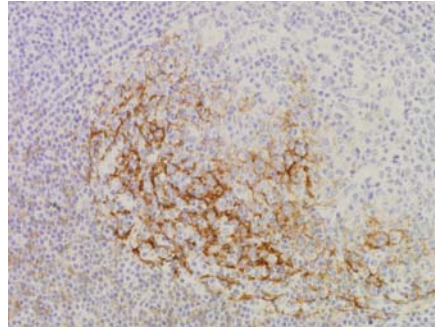
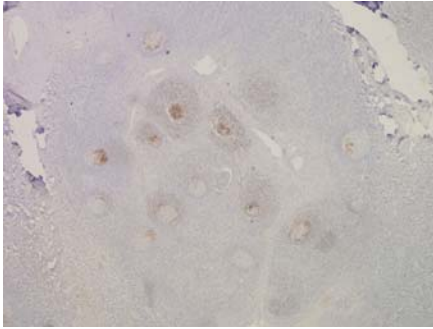
Imágenes representativas de diferentes valoraciones



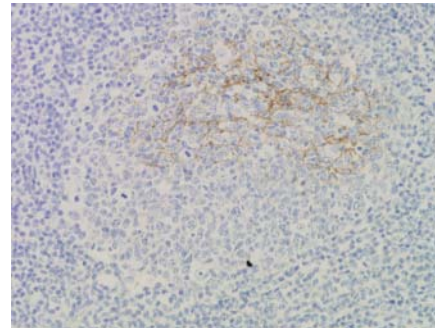
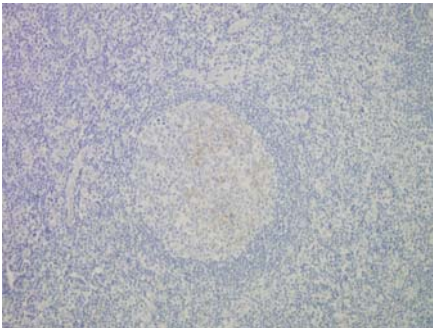
Imágenes de CD23 con valoración 20. Control del GCP con adecuada inmunoreactividad de membrana en las células dendríticas y linfocitos B de los centros germinales.



Imágenes de CD23 con valoración 16. Control GCP con óptima inmunoreactividad aunque de intensidad mejorable en algunos folículos.



Imágenes de CD23 con valoración 13, penalizada por artefactos técnicos. Heterogeneidad de señal y artefacto tisular



Imágenes correspondientes a CD23 con valoración 9. Mínima reactividad de membrana y ausencia de señal en la mayoría de los folículos linfoides