



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 1

**Antígeno probado:** CD3

**Tejido probado:** Amígdala

**Instrucciones:** Los participantes fueron invitados a teñir con CD3 la preparación remitida por el programa (amígdala fijada 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: 75
- Contestados: 60, 80 % (GCP) y 59, 78'66 % (Control Local)

**Anticuerpos y Métodos evaluados:**

**Anticuerpos Primarios:**

Master Diagnóstica 020311Q Monoclonal de Conejo, Clon SP7 (Dil 1/50)  
Neomarkers/LabVision RM9107 Monoclonal de Conejo, Clon SP7 (Dil 1/50)  
Novocastra Monoclonal CD3- Clon PS1 (Dil 1/50)  
Dako N1580 Policlonal Ready-to-Use  
Dako A0452 Policlonal concentrado (Dil 1/1000-1/100)  
Dako M7254 Monoclonal Clon F7.2.38 (Dil 1/200-1/100)  
Neomarkers/Lab Vision Policlonal CD3epsilon RB360  
BunlingCite?? MC112 Clon B1138 (Dil 1/10)  
Biogenex 12584 Clon PS1 (Dil 1/30)

Master Diagnóstica 001612QD Monoclonal prediluido Clon PS1  
 Biogenex AM322-5M Monoclonal prediluido CD3epsilon Clon PS1  
 Ventana/Atom 790-2921 Monoclonal prediluido Clon PS1  
 Zymed 08-1269 Monoclonal prediluido Clon PS1

**Recuperación antigénica:**

- Microondas
- Olla a presión
- Baño María
- PT Module Lab Vision
- Raypa Termostatic Bath
- Digestión enzimática con Pepsina

**Detección:**

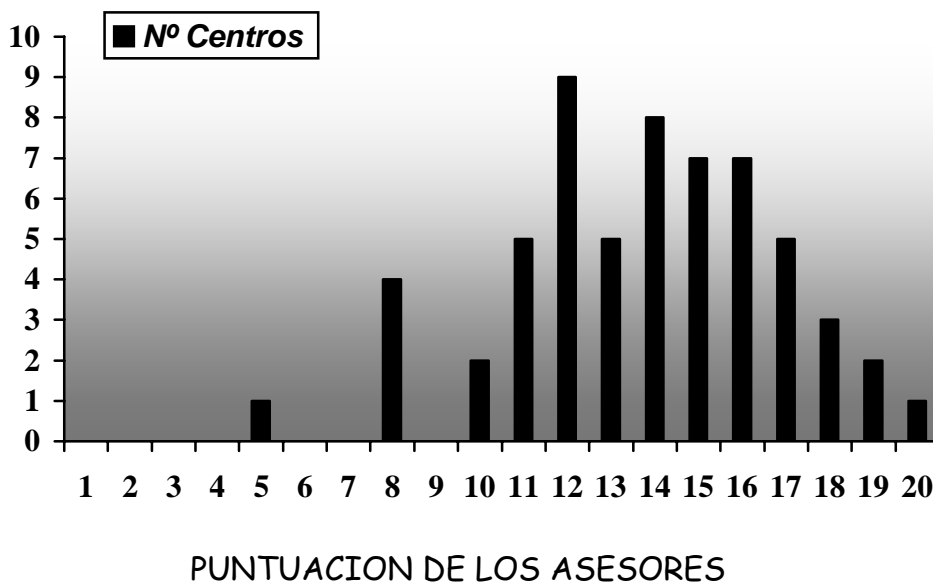
- Dako Envision
- Dako LSAB+/2
- Kit Ventana
- Biogenex

**Automatización**

- Dako Techmate 500
- Lab Vision Autostainer
- Biogenex 6000
- Ventana/Atom Benchmark XT

**Estudio de los controles de cada centro:**

Los resultados de la evaluación fueron los siguientes:

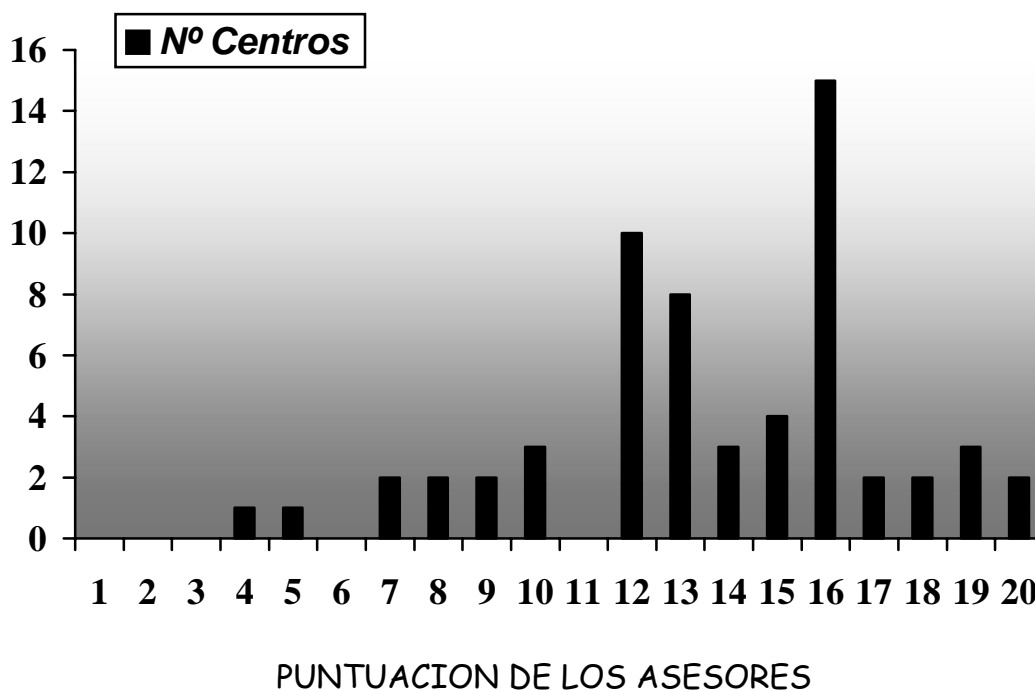


Considerando que una puntuación igual o superior a 12 se considera aceptable, el 79'66 % (47) de las preparaciones remitidas se consideraron como aceptables, con un 30'50 % (18) con una puntuación igual o superior a 16/20, consideradas como óptimas o cercanas.

Un 20% de los centros participantes no alcanza el nivel mínimo para considerar que la técnica puede aplicarse de manera rutinaria.

Los principales problemas detectados han sido una alta frecuencia de tinción irregular, con distintas intensidades en las que se observan áreas del tejido con una intensidad de la tinción o número de células inmunorreactivas inferior al esperable. Un problema menos frecuente, aunque reseñable, eran los artefactos técnicos generales (hidratación, contraste inadecuado por exceso o defecto, defectos en la manipulación con rotura del corte, etc.).

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

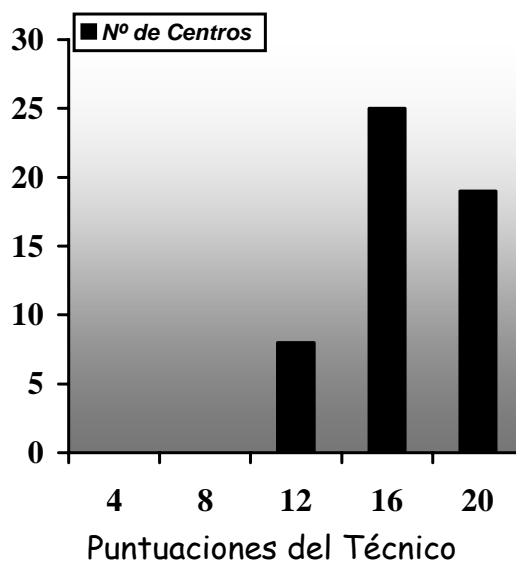
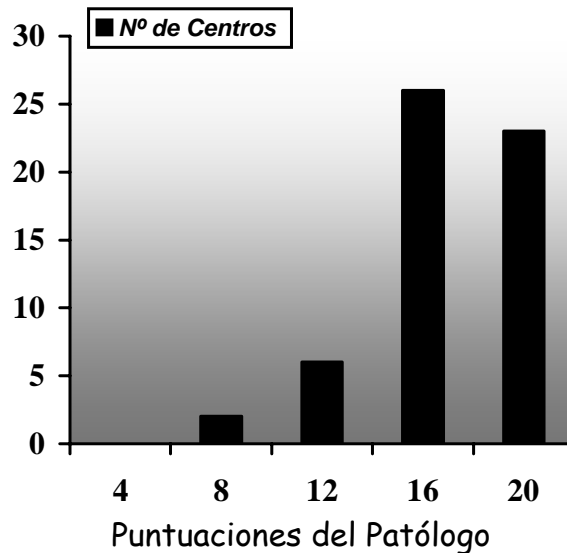


Teniendo en cuenta que una puntuación igual o superior a 12 se considera aceptable, el 81'6% (49) de las preparaciones remitidas se estimaron aceptables. Un 40% (24) obtuvieron una puntuación igual o superior a 16/20, consideradas como óptimas o cercanas. Un 18'3% de los centros no alcanzaron la calidad suficiente para considerar que la técnica puede aplicarse de manera rutinaria.

Existieron pocas discrepancias en los resultados respecto al control local, con una alta frecuencia de tinción irregular, con áreas del tejido mostrando una intensidad de la tinción o número de células inmunorreactivas inferior al esperable. La evaluación demostró también la alta frecuencia de tinciones de intensidad débil o insuficiente y de presencia de leve fondo inespecífico. Un porcentaje reseñable de casos mostró signos de pretratamiento muy agresivo (exceso de tiempo y/o calor).

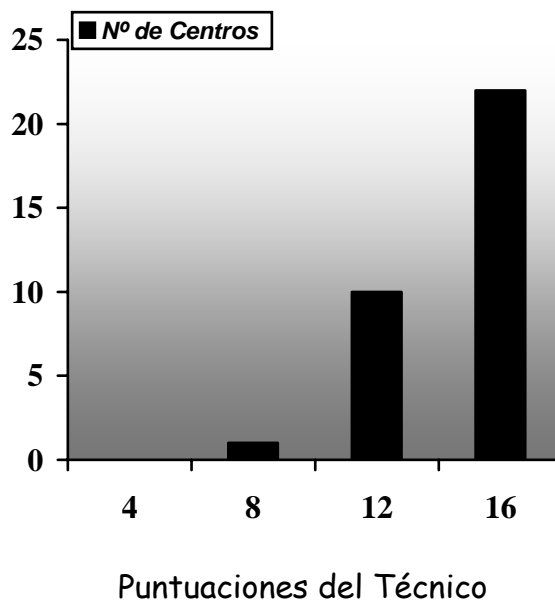
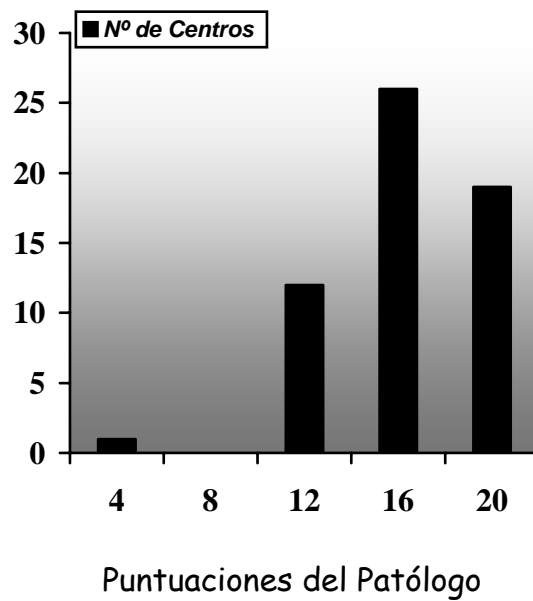
**Resultados de la autoevaluación:** El 89.8 % de los técnicos y el 98.3 % de los patólogos participantes remitieron su valoración de los controles locales y del control del GCP. Los resultados obtenidos del análisis de tales datos son los siguientes:

### Control Local



Como se puede observar en los gráficos y reconocemos en la mayoría de las técnicas analizadas, la percepción local sobre los resultados es muy superior a la valoración de los observadores externos. Para los técnicos participantes el 84'61 % de los casos tenían una puntuación igual o superior a 16/20. Este porcentaje era del 85'9 % en el caso de los patólogos. En ambos casos esas cifras eran muy superiores a las de los observadores externos (30'50%).

### Control del GCP



Los resultados son similares al control local, con un 81'1% de preparaciones con una puntuación igual o superior a 16/20 para los técnicos, y un 77'5 % para los patólogos, Sigue observándose una notable discrepancia con las valoraciones de los asesores externos (que eran del 40%) aunque menor que en el caso de los controles locales.

**Inmunotinción óptima:** Se consideró una inmunotinción óptima a la que mostraba teñidos el número de células esperado con una adecuada relación en la intensidad de la tinción con respecto al contraste empleado y con mínimo o ausente artefacto tanto de técnica inmunohistoquímica (degradación del tejido por sobrecalentamiento, tinción de fondo, p. ej.) como de técnica histológica (contraste adecuado, ausencia de hidratación, etc). Los criterios generales de puntuación empleados son los reflejados en las hojas de resultados individuales remitidas.

**Mejor método** (puntuación de 20/20 en las preparaciones del GCP):

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: Dako Techmate 500

Digestión enzimática: No

Recuperación antigénica con calor: Microondas.

Tampón y pH: ph 9

Anticuerpo primario: Neomarkers-Lab Vision RM9107 /Master Diagnóstica 020311Q: Monoclonal de Conejo Clon SP7. Dilución 1/50 durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Método de detección: Dako Envision K5007

Cromógeno: Dako DAB K5001, 5-10 minutos a temperatura ambiente

**Comentarios:** Observamos buenos resultados con diversos anticuerpos mono- y policlonales, aunque algunos de los métodos han demostrado escasa sensibilidad en la demostración de linfocitos T e irregularidad en la tinción. La mayor sensibilidad con ausencia de fondo se ha observado con el anticuerpo monoclonal de conejo clon SP7, aunque sus ventajas desaparecieron al utilizar un tampón de recuperación antigénica inadecuado (por ejemplo, a ph 6.0-8.0).

En general, se observan sólo leves discrepancias en los resultados según se analicen los controles locales o el control del GCP, que reflejen deficiencias en fijación y procesamiento.

Atendiendo solo a los resultados del GCP, la mayoría de ellos son adecuados para su utilización rutinaria.

El 20% aproximado de centros que no alcanzan la calidad suficiente para considerar que la técnica es aceptable para la rutina, han utilizado anticuerpos que han demostrado buenos resultados en otros centros, lo que demuestra la necesidad de mejorar las condiciones de recuperación antigénica y los métodos de detección empleados.