



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

4ª RONDA

Antígeno probado: CD23

Tejido probado: Amígdala

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

CD23 es una glicoproteína de membrana de 45kD, cuya función esencial es la regulación y producción de IgE y la diferenciación de células B.

Se expresa en linfocitos B, siendo fuertemente expresada en células B activadas del centro germinal, y con inferior expresión en las en las células B del manto. También se observa expresión en monocitos, células dendríticas foliculares (FDCs), predominantemente en la zona apical clara, del centro germinal, pero también se puede expresar en linfocitos T CD4+ , plaquetas, eosinófilos, neutrófilos y células de langerhans.

En neoplasias, es expresa en Leucemia Linfocítica Crónica (LLC), en Linfomas Foliculares, y en ocasiones en Linfomas Linfoplasmacíticos y de la Zona Marginal, pero no se expresa en Linfomas del Manto. En LLC la expresión es fuerte en los centros proliferativos. Algunos autores han descrito expresión en células epiteliales de Carcinoma Nasofaríngeo

Número de laboratorios participantes:

- Remitidos: 83
- Contestados: 62

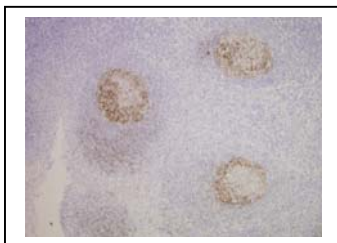
Guía utilizada para la evaluación: Cada uno de los cuatro asesores concedieron una puntuación entre 0 y 5, lo que daba una puntuación entre 0 y 20 puntos. La puntuación fue como sigue:

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: con adecuada inmunoreactividad de membrana en las células dendríticas y linfocitos B de los centros germinales.

Otras variables que se han tenido en consideración han sido:

- Ausencia/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:



- Tinción membrana en células B y células dendríticas de los centros germinales de los folículos linfoides
- Ausencia total de fondo
- Buena técnica histológica

Resultados de la Evaluación

Anticuerpos y métodos evaluados:

- Anticuerpos primarios

Anti-CD23	Casa Comercial
SP23(RABBIT)	MASTER DIAGNOSTICA
SP23(RABBIT)	LABVISION
1B12	NOVOCASTRA
1B12	NEOMARKERS
1B12	ATOM-VENTANA
BU38	BIOCARE
BU38	THEBINDING SITE
MHM6	DAKO

Recuperación antigénica:

Aparatos utilizados:

- Microondas
- Olla a presión
- Baño María
- Autoclave

Soluciones de recuperación antigénica (Tampones)

- Citrato a diferente pH (6; 6.5; 7; 7.3; 7.6; 8)
- EDTA ph9

Tratamiento enzimático:

- Pepsina

Sistemas de Visualización:

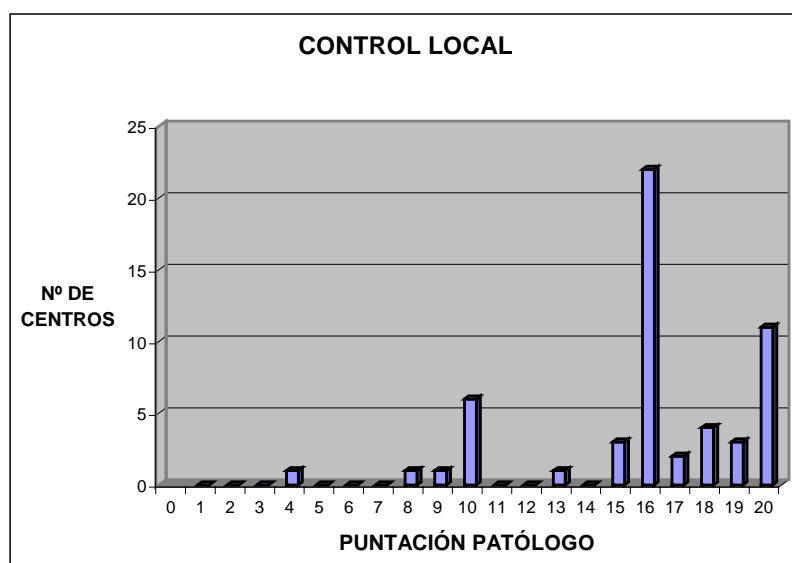
- LAB de Ventana
- LSAB de DAKO
- EnVision de DAKO
- Novolink de Novocastra
- Masvision de master diagnostica

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

La participación ha sido del 75%.

1.a. - Valoración global del control GCP por los Asesores

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

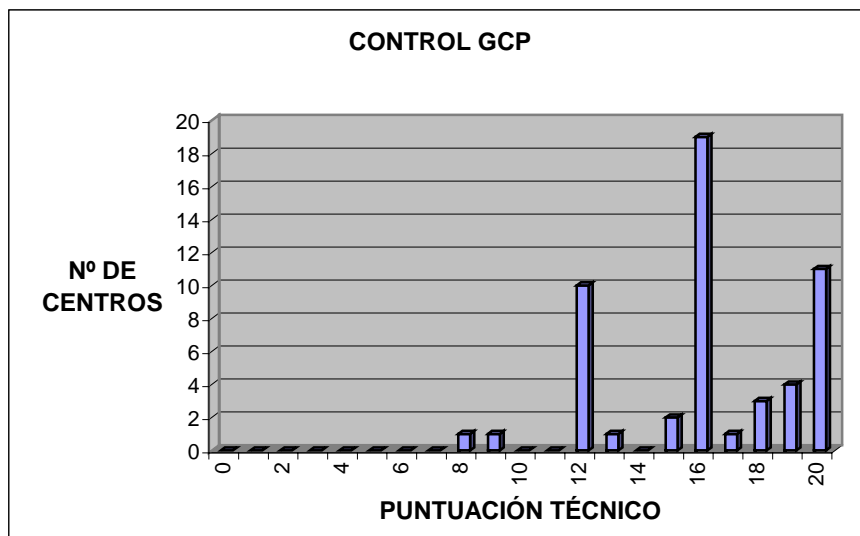


Gráfica nº 1

Considerando inmunotinción óptima, resultados igual o superior a 12, podemos deducir que el 68% de los centros que remitieron preparaciones en esta 4ª ronda, obtuvieron unos resultados óptimos para el diagnóstico, si bien pueden mejorar los resultados dado que de todos los centros que remitieron el control para CD23, el 23% consiguieron una valoración igual o superior a 16.

1.b.- Valoración LOCAL en el control GCP por parte de los Técnicos de cada centro.

La participación ha sido del 90% y los resultados son los reflejados en la siguiente gráfica.



Grafica nº 2

Como en ocasiones anteriores, podemos observar que las valoraciones locales son sensiblemente superiores a las valoraciones realizadas por observadores externos.

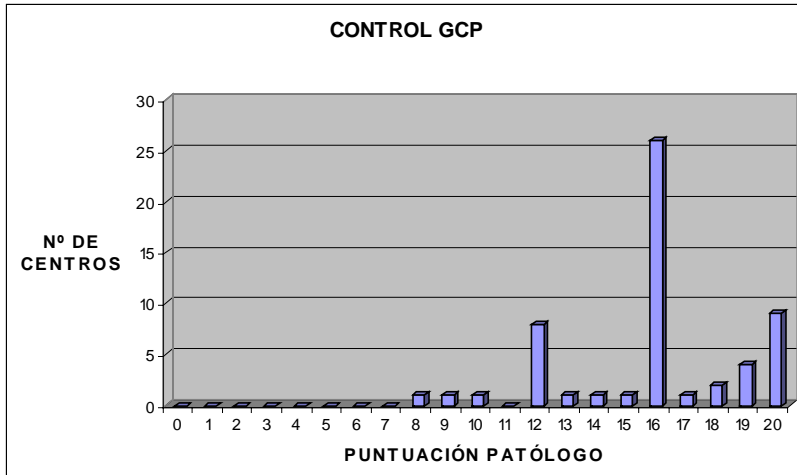
La participación ha sido del 85.5%.

La gráfica nº 2 refleja que el 96 % consideraron valoraciones de 12 o superiores.

- El 71.4% otorgaron valoraciones de 16 y superiores
- El 37,7% imputaron valoración excelente de 20

1.c.- Valoración LOCAL en el control GCP por parte de los Patólogos de cada centro.

Han enviado las puntuaciones el 90%.

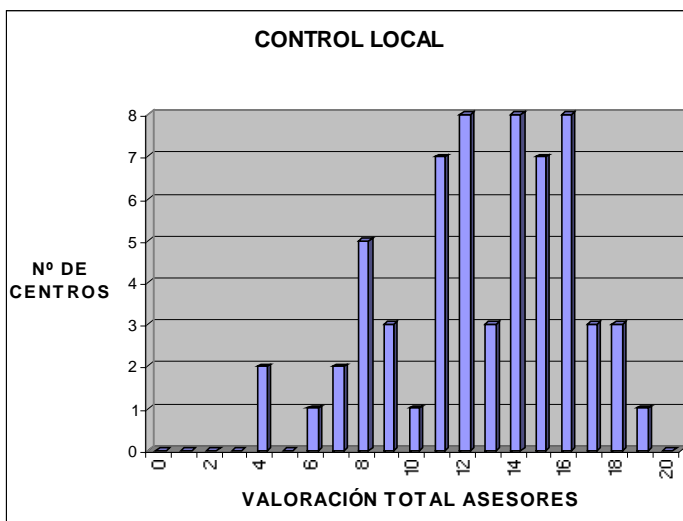


Gráfica 3

De la gráfica podemos deducir que la autoevaluación remitida por parte de los patólogos fue la siguiente:

- Valoración igual o superior a 12, el 93% del total de participantes.
- Valoración superior o igual a 16: 75% global.
- Valoración de 20: el 16% global.

2.a.- Estudio de controles locales de cada centro: Las puntuaciones otorgadas por el grupo de 4 asesores en la 4ª Ronda de Patología Linfóide, en los controles locales remitidos fue según se refleja en la gráfica:



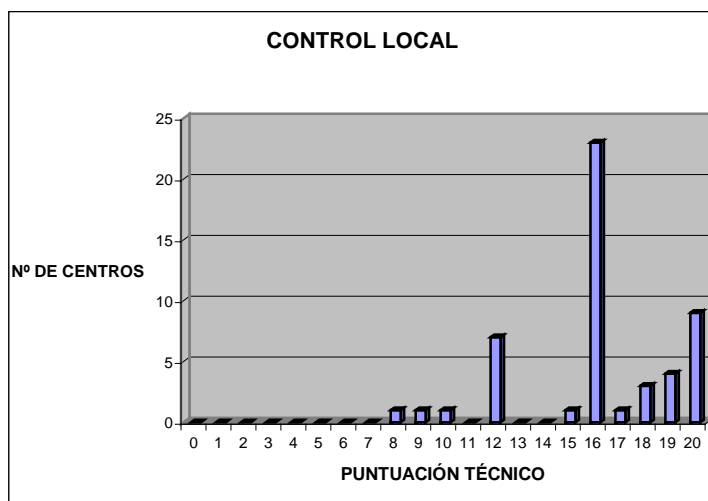
Gráfica 4

La participación ha sido del 75%

Del análisis de resultados se deduce que:

- Valoración óptima (12 o superior) en el control local lo obtuvieron el 66% del global.
- Valoración de 16 o superior: el 24% global.

2.b.-Autoevaluación en el control LOCAL por parte de los Técnicos de cada centro:



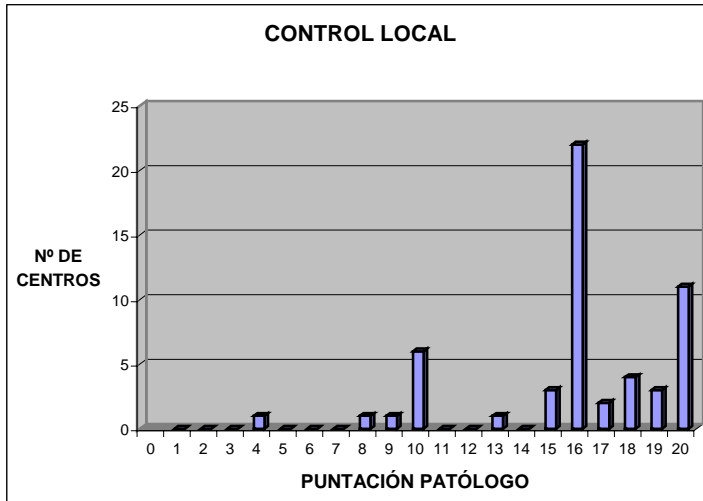
Gráfica 5

En lo referente a las valoraciones otorgadas por parte del personal técnico de cada centro, cabe destacar que :

- El 86% valoración de 12 o superior.
- El 71% valoración de 16 o superior.
- El 16% valoración 20.

2.c.-Autoevaluación en el control LOCAL por parte de los Patólogos de cada centro:

- Autovaloraciones de 12 o superiores fueron remitidas por el 82% de los centros.
- El 75% Global otorgaron valoraciones de 16 o superiores
- El 20% se concedieron valoraciones e 20



Gráfica 6

3.- Protocolos de los mejores métodos (puntuación de 19/20):

A)

- Método de Visualización: Dako Envision kit k5007
- Inmunoteñidor automático: Autostainer de Dako
- Buffer y pH: Buffer Dako
- Bloqueo: H_2O_2
- Recuperación antigénica: Baño María, 20 minutos en tampón EDTA pH 9
- Anticuerpo primario: Clon SP23 de Master Diagnóstica, a dilución 1/50 durante 30 minutos a tª ambiente
- Cromógeno: Dako DAB K500 7, 5 minutos a tª ambiente

B)

- Método de Visualización: Dako Envision kit k5007
- Inmunoteñidor automático: TM-500
- Buffer y pH: Buffer: información no aportada
- Bloqueo: H_2O_2
- Recuperación antigénica: Tampón Citrato 10mM pH 7,3
- Anticuerpo primario: Clon 1B12 de Novocastra, a dilución 1/20 durante 30 minutos a tª ambiente
- Cromógeno: DAB

C)

- Método de Visualización: DakoCytomation LSAB-HRP K5001
- Inmunoteñidor automático: BENCHMARK VENTANA
- Bloqueo: H_2O_2

- Recuperación antigénica: Olla a presión, 2 minutos en tampón Citrato pH 8
- Anticuerpo primario: Clon SP23 de VITRO

D)

- Sistema de Visualización: EnVision DAKO
- Sistema automatizado; AUTOSTAINER Dako
- Bloqueo: H₂O₂
- Recuperación antigénica: por calor en tampón EDTA pH 9 durante 123°C, 1 minuto.
- Anticuerpo primario: SP23 de Master Diagnostica
- Cromógeno: DAB.

4. -Comentarios:

Los resultados a nivel global indican una demostración de CD23 óptima para el diagnóstico. Siendo aconsejable revisar los mejores protocolos para aquellos laboratorios donde no fue del todo óptima la valoración.

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:

- Utilizar controles de expresión conocida y adecuada fijación.
- Revisar los protocolos de desenmascaramiento.
- Ajustar las diluciones y tiempos de incubación de los reactivos.
- Revisar las caducidades de los reactivos.
- Evitar que las preparaciones se deshidraten durante la técnica de inmunotinción.
- Revisar las preparaciones tras el proceso de inmunotinción, estableciendo un control de calidad interno

Imágenes de CD23 con valoración 19. Control del GCP con adecuada inmunoreactividad de membrana en las células dendríticas y linfocitos B de los centros germinales.

