

## MÓDULO DE PATOLOGÍA QUIRÚRGICA GENERAL

### 3.ª RONDA

**Antígeno probado:** CD45 (ALC).

**Tejido probado:** Apéndice.

**Instrucciones:** Los participantes fueron invitados a demostrar las preparaciones proporcionadas por el programa (Apéndice fijado en formol al 10% pH 7 durante 24 horas) además de su propia preparación control, con anticuerpo frente a CD45r.

**Número de laboratorios participantes:**

— **Remitidos:** 80.

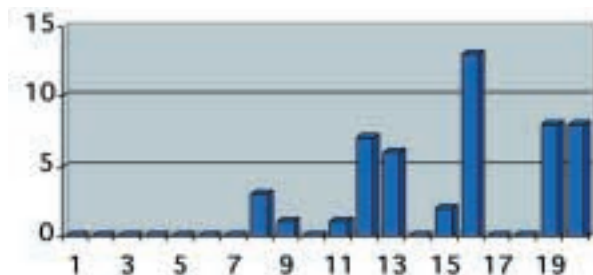
— **Contestados:** 54.

**Guía utilizada para la evaluación:** Cada uno de los cuatro expertos 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 score
1-2	Tinción de membrana menor de lo esperado
3	Tinción esperada aunque focal
4-5	Intensa señal de membrana en linfocitos B y T

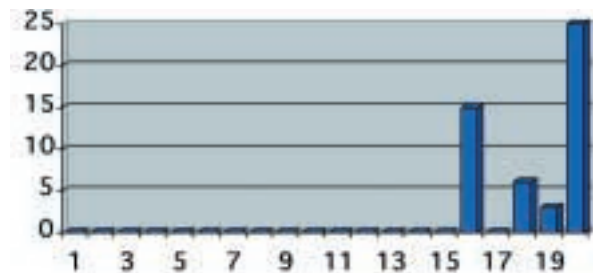
La mayoría de los laboratorios han remitido CD45 (ALC), sin embargo, algunos laboratorios han remitido la preparación inmunoteñida con CD45 RO, en estos casos las valoraciones se han hecho para CD45RO, y no CD45r.

N.º de centros



Valoración del grupo de asesores en el control enviado por el GCP

N.º de centros



Autoevaluación de cada laboratorio en el control enviado por el GCP

En la gráfica podemos observar que la mayoría de los laboratorios tienen un nivel aceptable de inmunotinción, siendo un 81% los laboratorios con una valoración de 12 o superior.

Si analizamos el n.º de laboratorios que obtienen una valoración entre 16 a 20, es decir óptima o muy buena, podemos observar que son el 63% de los participantes.

En cuanto a la auto evaluación, cabe destacar que en la mayoría de los casos, se remitió una valoración superior a la evaluación otorgada por el grupo de asesores del Programa de Garantía de Calidad.

Entre los problemas que hemos podido observar en aquellas preparaciones con una valoración inferior al 12 han sido:

- Señal heterogénea en la preparación, causada posiblemente por artefacto técnico referido como secado de parte de la preparación, insuficiente reactivo...
- Desenmascaramiento muy riguroso que impedía mantener la estructura y morfología celular, impidiendo observar el detalle morfológico de señal de membrana para este marcador.

#### Estudio de controles Locales

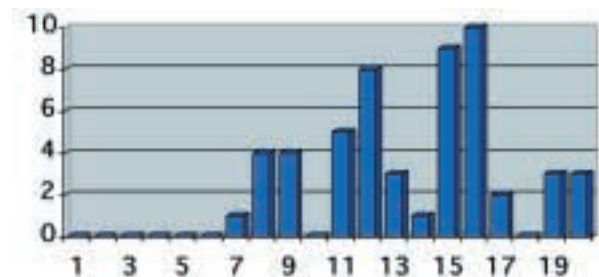
**Enviados:** 80.

**Remitidos:** 54.

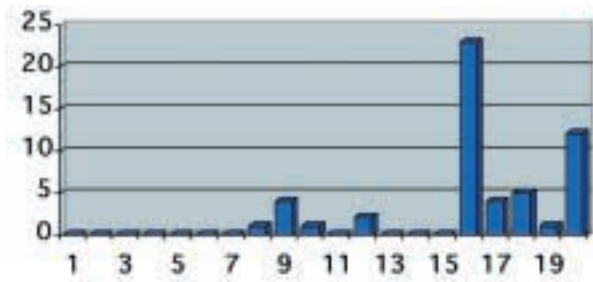
**Controles remitidos:** La mayoría de los participantes remitieron como control para ser evaluado: amígdala, apéndice y ganglio reactivo.

**Puntuaciones:** Las puntuaciones obtenidas por todos los participantes se pueden reflejadas en el siguiente gráfico:

N.º de centros



Valoración del grupo de asesores en el control local



Autoevaluación de cada laboratorio en el control local remitido

El 73% de los participantes (39 de 54) obtuvieron una puntuación superior a 12, es decir dentro del rango de «tinción aceptable».

33% de los participantes (18 de 54) obtuvieron en las preparaciones una valoración óptima.

### Inmunotinción óptima para el Antígeno Leucocitario Común (ALC) o CD45

1. Intensa y completa señal de membrana en todas las células linfoides: células B y T intra e inter foliculares, granulocitos, monocitos y macrófagos.
2. Mínima señal citoplasmática.
3. Ausencia total de señal inespecífica y ruido de fondo.
4. Ausencia de señal en células no hematopoyéticas.

#### Mejores métodos (puntuación de 20/20)

- a) *Recuperación antigénica*: Citrato 10 mM, pH 6.5, 2 minutos en olla a presión.

*Anticuerpo primario*: PD7/26, dilución 1:1000, tiempo de incubación 30 minutos a Tª ambiente.

*Sistema de Visualización*: EnVision-Dual Link HRP de Dako Cytomation.

*Automatización*: DakoCytomation-Autostainer.

- b) *Recuperación antigénica*: Citrato 10 mM, pH 6.2, 2 minutos en olla a presión.

*Anticuerpo primario*: 2B11 + PD7/26, dilución 1:50, tiempo de incubación 30 minutos a Tª ambiente.

*Sistema de Visualización*: LSAB-HRP DakoCytomation.

*Automatización*: TechMate- Horizon. DakoCytomation.

- c) *Recuperación antigénica*: Citrato 10 mM pH 6.2 minutos en olla a presión.

*Anticuerpo primario*: PD7/26, dilución 1:50, tiempo de incubación 30 minutos a Tª ambiente.

*Sistema de Visualización*: EnVision-Dual Link HRP de Dako Cytomation.

*Automatización*: TechMate 500 DakoCytomation.

**Comentarios:** En conjunto la mayoría de los resultados para CD 45 fueron aceptables para el diagnóstico.

En general para obtener óptimos resultados en los marcadores linfoides se aconseja:

- La utilización de controles de expresión conocida, tales como amígdala reactiva o apéndice.
- Utilizar protocolos de fijación con formól tamporado entre 12-24 horas.
- Cortes entre 3-4 micras, con un óptimo protocolo de desparafinación.
- Utilización de recuperación antigénica, ajustándose el tipo de Tampón, pH y tiempo.
- En lo referente al mejor marcador, todos los remitidos son óptimos.