



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 9

**Antígeno probado:** CD79a

**Tejido probado:** Amígdala palatina.

**Instrucciones:** Los participantes fueron invitados a demostrar mediante inmunohistoquímica, la expresión de CD79a en la preparación remitida desde el programa (amígdala palatina fijada durante 24 horas en formol al 10% , pH 7) además de su propia preparación control, remitiendo ambas para evaluación.

#### **Características, utilidad y variabilidad de expresión:**

El antígeno CD 79 es un heterodímero que consta de dos fosfoproteínas: CD 79a (mb-1 de 47 kDA) y CD 79b (B29 de 37 kDA). CD 79a localiza en la membrana de las células B, y es específico de estas, apareciendo en estadio pre-B y permaneciendo en células plasmáticas. En estas últimas se expresa en citoplasma. Se demuestra en:

» La inmensa mayoría de neoplasias de células B y en el 50% de las neoplasias de células plasmáticas.

» Puede coexpresarse junto con CD 3 en hasta el 10% de leucemias y linfomas linfoblásticos T. Raramente se expresa en linfomas T maduros.

» En el linfoma de Hodgkin de predominio linfocítico nodular, CD 79a se expresa en la mayoría de los casos, mientras que en los demás tipos se expresa sólo en el 20%.

» También se describe expresión de CD 79 a en la leucemia mieloide M3.

De lo anterior se deduce que es, junto con el CD 20 uno de los marcadores más importantes en la caracterización de neoplasias de células B.

#### **Número de laboratorios participantes:**

-Remitidos: 90

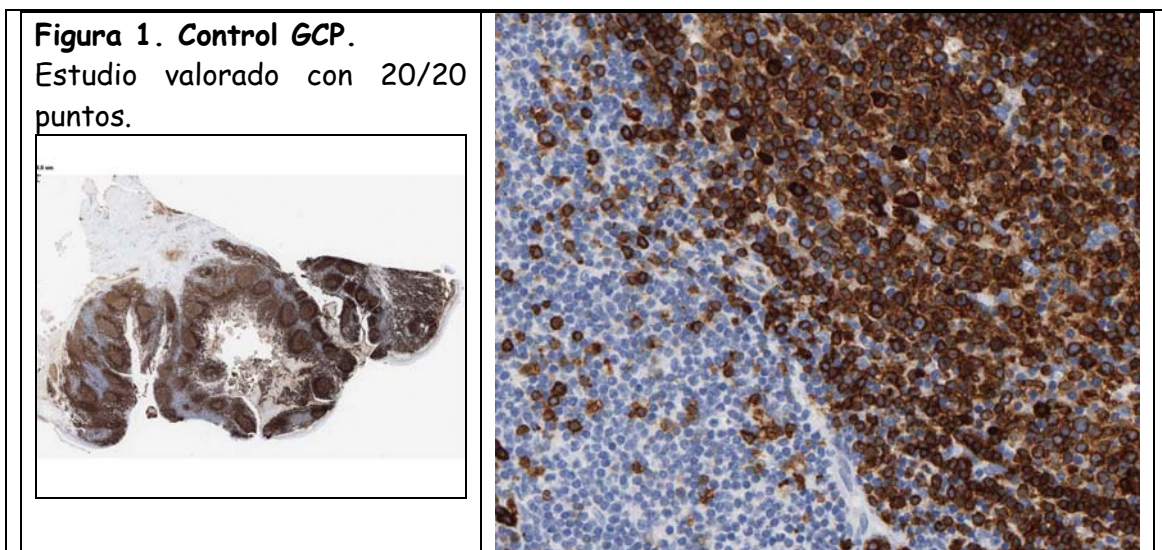
-Recibidos: 71, 78'8% (control GCP) y 70, 77'7% (control local)

### **Criterios de evaluación:**

Se valoraron los estudios inmunohistoquímicos recibidos en una escala de 1 a 5 por cada uno de los 4 asesores siguiendo los siguientes criterios:

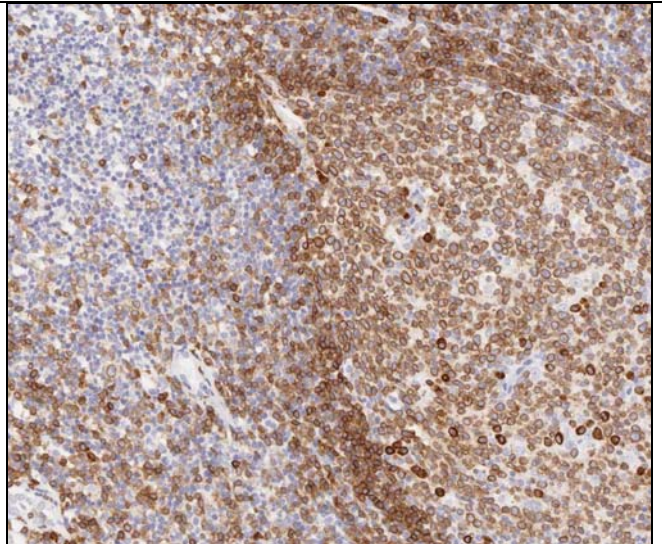
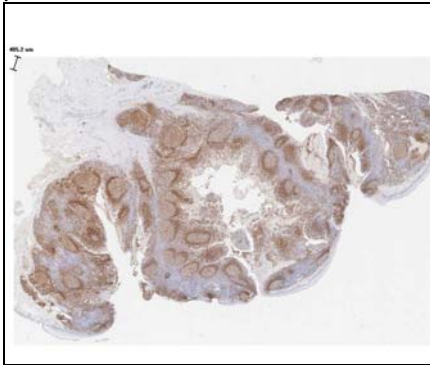
1. Ausencia de discriminación/expresión.
2. Expresión parcial: sólo se observa expresión en células plasmáticas
3. Estudio de expresión adecuado para propósitos de diagnóstico. Discriminación en todas las áreas. Expresión de membrana en linfocitos B, más intensa en manto y menos en centro folicular. Las células plasmáticas muestran señal intensa citoplasmática.
4. Igual que el anterior pero con calidad superior calidad técnica (ausencia de difusión, contratinción adecuada)
5. Calidad técnica excelente: corte histológico de calidad, ausencia de burbujas, tinción regular en toda la preparación, buena preservación de todo el tejido tras el procedimiento de recuperación.

Como ejemplo se adjuntan imágenes tomadas de preparaciones correspondientes al caso control del programa GCP con diferente valoración por el equipo asesor.



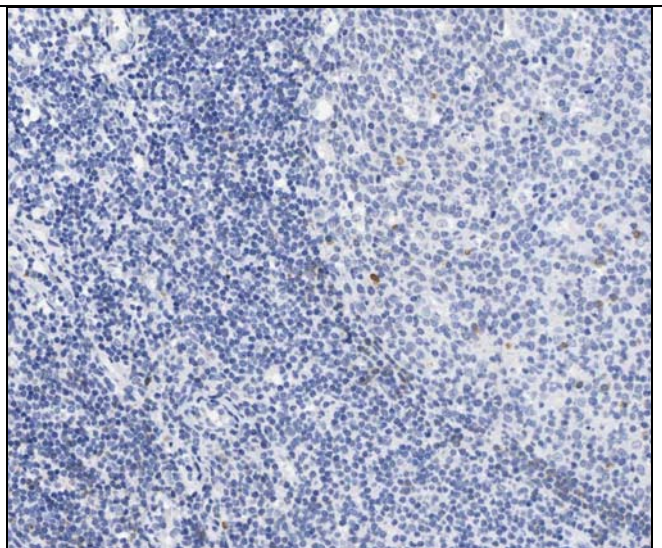
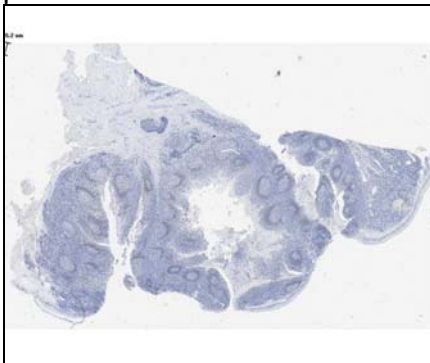
Las imágenes muestran una señal intensa de membrana en células B, y citoplasmática en células plasmáticas. No se observa tinción de fondo. El estudio es de calidad homogénea en todo el corte.

**Figura 2. Control GCP.**  
Estudio valorado con 12/20 puntos.



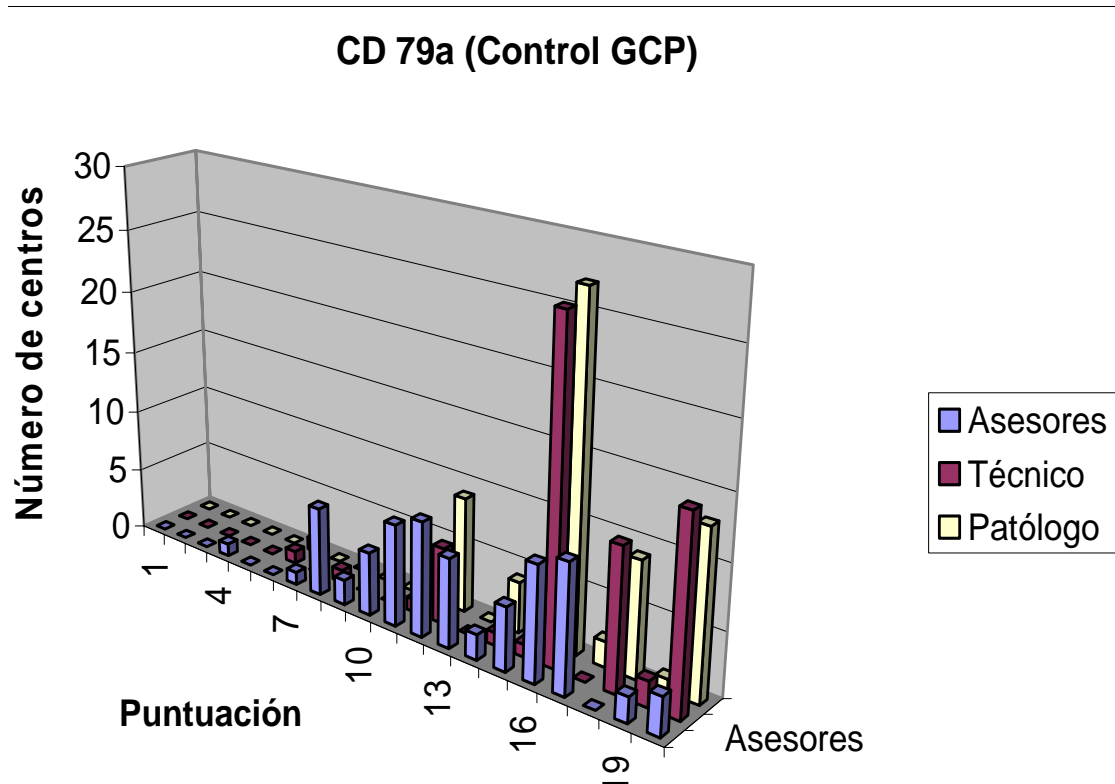
Las imágenes muestran una bien definida aunque menos intensa que la figura anterior, en membrana en células B, y citoplasmática en células plasmáticas. Existe una tenue tinción de fondo que no impide la valoración. El estudio es de calidad homogénea en todo el corte. Preparación adecuada para propósitos de diagnóstico.

**Figura 2. Control GCP.**  
Estudio valorado con 4/20 puntos.



Escasa señal citoplasmática en células plasmáticas. No se observa señal de membrana. Estudio no adecuado para propósito diagnóstico.

Estudio de los controles remitidos por el programa GCP: los resultados de la evaluación fueron los siguientes:



Considerando como aceptable una puntuación igual o superior a 12, el 66% de las preparaciones recibidas (47 de 71) fueron consideradas como tales. El 33'8% (24 de 71) fueron consideradas de calidad superior (puntuación igual o superior a 16). Tres preparaciones fueron consideradas óptimas en calidad (puntuación igual a 20). El principal defecto reseñado por los asesores en las preparaciones con puntuación subóptima fue la existencia de escasa señal, seguida de señal irregular de unas áreas a otras del corte.

En el grupo de preparaciones evaluadas con puntuación adecuada o buena (12-16/20) el principal defecto detectado fue ligera-moderada tinción de fondo.

En un caso se recibieron preparaciones etiquetadas con identificación del hospital.

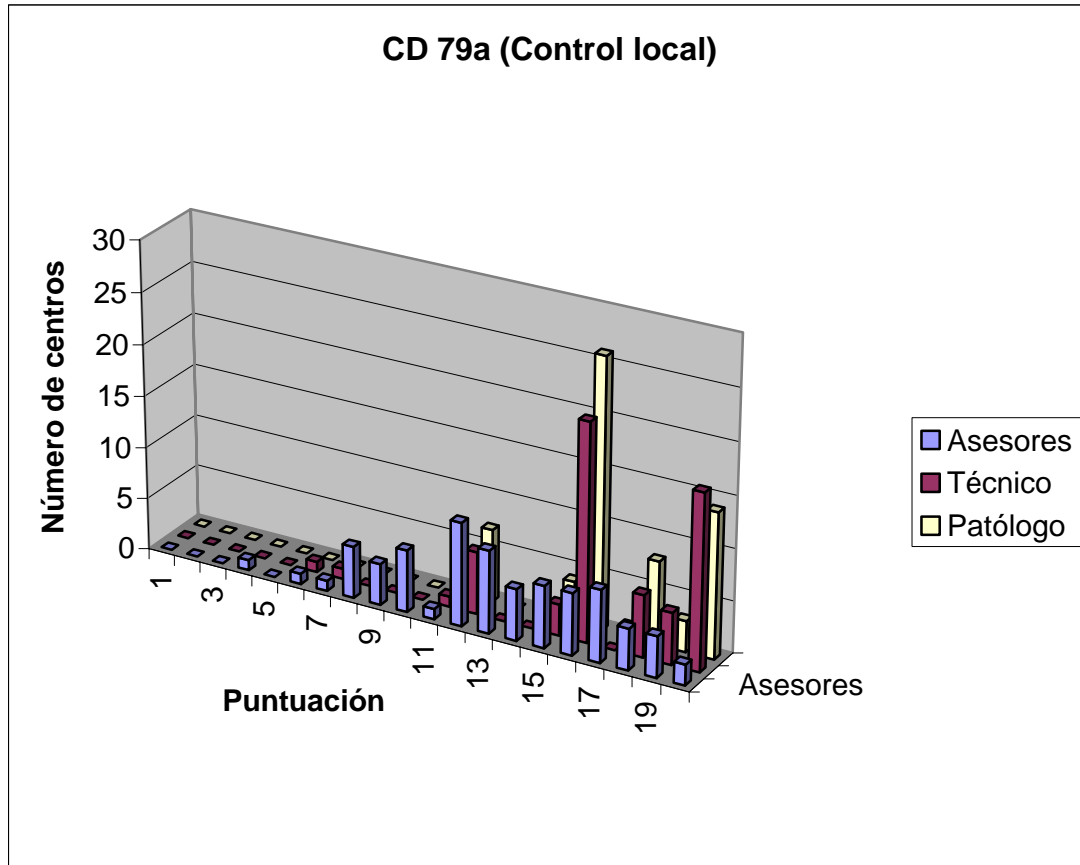
El 95'4% de los técnicos y el 98'5% de los patólogos autoevaluaron los resultados de la técnica con el control remitido por el programa como adecuados buenos o muy buenos (puntuación igual o superior a 12). Un hospital se autoevaluó (tanto por el técnico como por el patólogo) con 25 puntos (5 por encima del máximo).

El 84'87% de los técnicos y el 78'5% de patólogos evaluaron sus preparaciones como de muy buena calidad o excelentes (puntuaciones iguales o superiores a 16). Si bien la mayoría de preparaciones fueron evaluadas por los asesores como adecuadas o buenas (66% de preparaciones con puntuación superior a 12), existe gran diferencia con la autovaloración. Esta discordancia es evidente en el gráfico.



### Estudio de los controles locales:

Se recibieron 70 preparaciones, casi todas correspondientes a amígdala palatina. Tres centros remitieron ganglio linfático, uno de ellos normal y los otros dos con linfomas no Hodgkin B de células grandes. Un centro envió un corte de apéndice cecal.



El 72'8% de las preparaciones (51 de 70) fue considerado por los asesores, de calidad adecuada para diagnóstico (puntuación superior a 12). El 31'4% (22 de 70) fueron consideradas de calidad buena o muy buena (puntuación superior a 16). Dos preparaciones obtuvieron valoración "excelente" (20 puntos).

En el 96'7% de las preparaciones por parte de los técnicos y el 97% por parte de los patólogos, fueron consideradas como adecuadas para diagnóstico. El 81'9% de preparaciones por parte de los técnicos y el 79% por parte de los patólogos consideraron que sus resultados son de calidad superior (puntuación igual o superior a 16), cifras que contrastan con las del equipo asesor (ver más arriba).

### Tecnificación utilizada:

Según la información aportada por los laboratorios participantes, se utilizaron los siguientes métodos de estudio.

**1. Anticuerpos utilizados:**

2.

Clona	Casa comercial
JCB-117	Dako
JCB-117	Novocastra
SP18	Master Diagnóstica
HM47/9A	Master Diagnóstica
11D10	Novocastra
HM57	Dako
HM47	Vision Biosystems

**3. Sistemas de recuperación antigénica:**

- Microondas.
- Baño María.
- Olla a presión.
- PT-module (Vitro).
- Benchmark.
- PT- module (Labvisión).
- Autoclave.
- PT-link (Dako)

**4. Soluciones de recuperación:**

- Tampón citrato a diferente pH (6, 6'1, 6'5, 7'3, 8 y 9).
- TBS.
- Tris-EDTA pH 9.
- EDTA pH 8.
- "Target retrieval" a pH 9.

**5. Sistemas de visualización:**

- Benchmark.
- Ventana i-View.
- Envision.
- Novolink.
- Streptavidina marcada.
- ABC Streptavidina.
- EPOS.
- Bond Polymer.
- LSAB

**6. Sistemas de automatización:**

- Dako autostainer.
- Bond Max (Menarini).
- Techmate 500.
- Autostainer plus (Dako).
- Ventana Benchmark XT.

**Mejores métodos:**

**Puntuación 20/20 en las preparaciones del GCP:**

**Método:** Envision.

**Automatización:** Dako autostainer.

**Digestión enzimática:** No.

**Recuperación antigénica con calor:** Si, olla a presión.

**Tampón y pH:** Citrato a pH 9.

**Anticuerpo primario:** Clon JCB117 de Dako (prediluido).

**Cromógeno:** DAB. No consta casa comercial

**Puntuación 20/20 en las preparaciones del GCP:**

**Método:** Envision

**Automatización:** Lab vision autostainer.

**Digestión enzimática:** No.

**Recuperación antigénica con calor:** Si, olla a presión.

**Tampón y pH:** Citrato a pH 8.

**Anticuerpo primario:** Novocastra. Clon JCB117 de Dako (prediluido), 30 minutos a temperatura ambiente.

**Cromógeno:** DAB. Proveedor Dako . 10 minutos a temperatura ambiente.

**Puntuación 20/20 en las preparaciones del control local:**

**Método:** Envision.

**Automatización:** Dako autostainer.

**Digestión enzimática:** No.

**Recuperación antigénica con calor:** Baño María.

**Tampón y pH:** "Target retrieval" pH 9.

**Anticuerpo primario:** JCB117 de Dako, 30 minutos a temperatura ambiente.

**Cromógeno:** DAB. Proveedor Dako. 10 minutos a temperatura ambiente.

**Puntuación 20/20 en las preparaciones del control local:**

**Método:** Bond Polymer

**Automatización:** Bond-Max (Vision Biosystems).

**Digestión enzimática:** No.

**Recuperación antigénica con calor:** Bond Max.

**Tampón y pH:** No consta.

**Anticuerpo primario:** JCB117 de Novocastra, dilución 1/60, 10 minutos a temperatura ambiente.

**Cromógeno:** DAB. Proveedor Vision Biosystems 10 minutos a temperatura ambiente.

**Comentarios:**

CD79a se encuentra disponible en la mayoría de centros participantes en el estudio, y en general se técnica adecuadamente para propósitos diagnósticos. Es de destacar que la tercera parte de los centros participantes remitieron estudios de muy buena calidad, según la valoración de los asesores independientes del programa.

De nuevo llama la atención la notable discordancia entre la valoración de los asesores y la valoración local (técnicos y patólogos).

Los problemas más frecuentemente detectados en esta ocasión eran los relacionados con la intensidad de la señal, tinción de fondo y contraste.

En general los controles locales remitidos son los adecuados. La utilización de tejido neoplásico en el que no existe representación de ningún área que no exprese el antígeno estudiado resulta más difícil de interpretar como control.

**Recomendaciones:**

- Revisar las imágenes seleccionadas digitalizadas, disponibles en la página web de la sección de Calidad de la SEAP como referencia para futuras autoevaluaciones.
- Revisar los protocolos de desenmascaramiento.
- Ajustar las concentraciones y tiempos de incubación.
- Utilizar controles adecuados: a ser posible un tejido normal en el que haya áreas en las que se exprese el antígeno estudiado y áreas sin expresión. Para CD79a, una amígdala normal y bien fijada es un excelente control.