



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 4ª

Antígeno probado: CD5

Tejido probado: Amígdala

Instrucciones: Se solicitó a los participantes realizar inmunotinción para CD5 sobre la preparación remitida por el Programa de Garantía de Calidad en Patología (sección de amígdala fijada en formol al 10%, pH 7, durante 24 horas) y su propia preparación control, devolviendo ambas para su evaluación.

Número de laboratorios participantes:

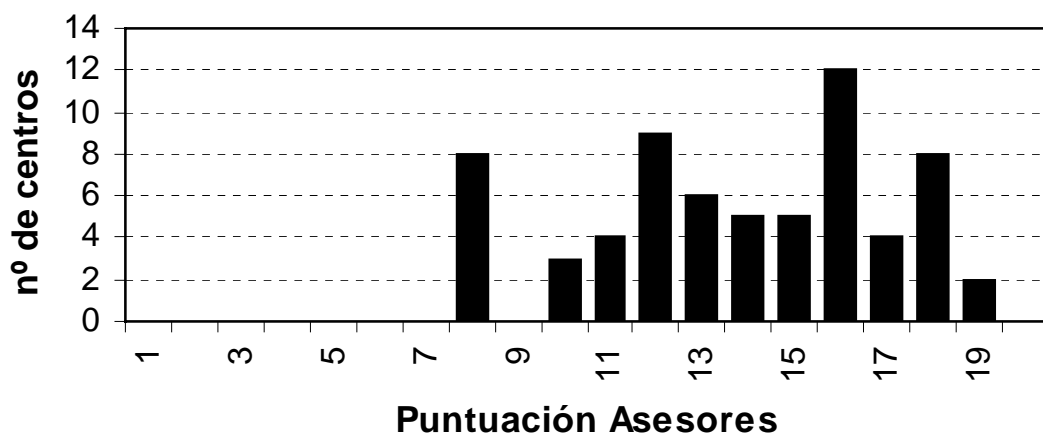
Remitidos: 83

Contestados: 66 (79,51%) Control GCP; 65 (78,31%) Control Local.

Estudio de los controles remitidos por el Programa GCP

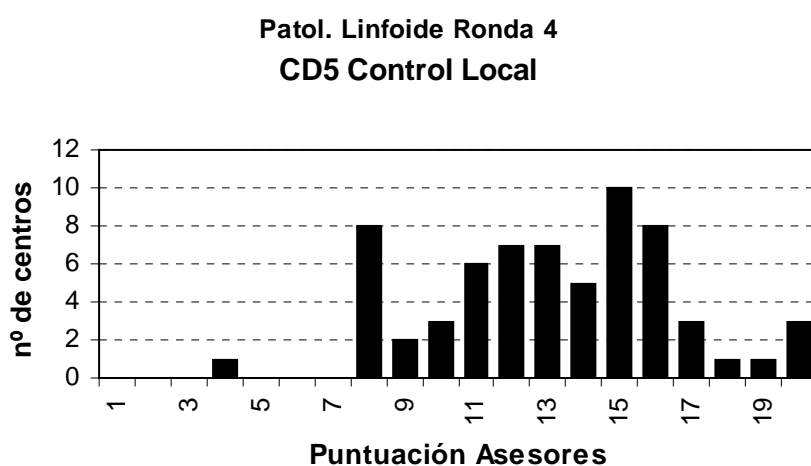
Considerando que una puntuación igual o superior a 12 se considera aceptable, el 77,27% de las preparaciones remitidas se consideraron aceptables. El 39,39% de las preparaciones obtuvieron una puntuación igual o superior a 16, consideradas como óptimas o casi óptimas. Siendo el control elegido amígdala no tumoral se consideró necesaria una inmunotinción intensa de membrana de los linfocitos T. En las técnicas con valoración entre 12 y 15 (aceptable pero no óptima) los problemas más frecuentes fueron los de inmunotinción débil, irregular, o de reducido número de células diana marcadas. También se observaron casos con señal difundida al citoplasma y tinción ligera de fondo. En la mayor parte de las técnicas valoradas con puntuación inferior a 12 (no aceptable), los problemas observados fueron de inmunotinción muy escasa, y en algún caso prácticamente nula.

Patol. Linfoide Ronda 4 CD5 Control GCP



Estudio de los controles locales

Considerando que una puntuación igual o superior a 12 se considera aceptable, el 69,23% de las preparaciones remitidas se consideraron aceptables. El 24,61% de las preparaciones obtuvieron una puntuación igual o superior a 16, consideradas como óptimas o casi óptimas. Mayoritariamente (85%), los controles locales remitidos fueron secciones de amígdala no tumoral, que en general fueron calificadas como aceptables por los asesores. Otros controles locales remitidos fueron linfomas B (10%), LLC, una lesión linfoepitelial de parótida y un bloque multi-tejido. Las técnicas con puntuación entre 12 y 15 (aceptable pero no óptima) presentaron fundamentalmente problemas de inmunotinción débil o irregular, y ligera tinción de fondo.

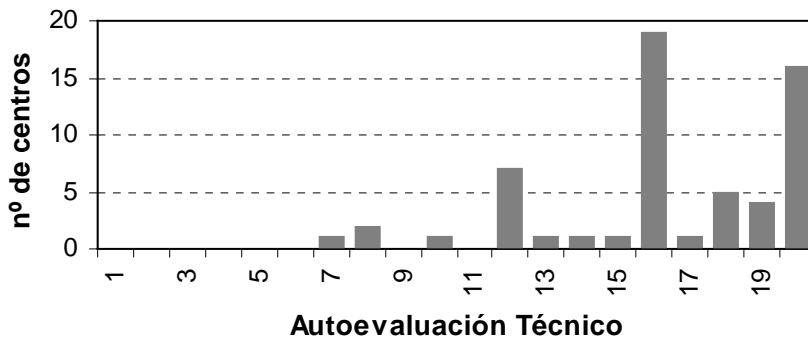


Resultados de la autoevaluación

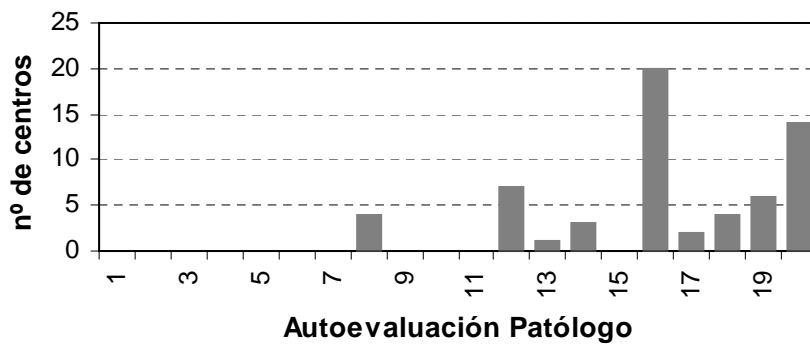
El 89,39% de los técnicos y el 92,42% de los patólogos participantes remitieron su valoración de los controles GCP y de sus controles locales. Como se puede observar en los histogramas, la percepción local de los resultados de la técnica sobre los controles GCP es superior a la valoración

de los asesores externos. Para los técnicos participantes el 93,22% de los controles fueron considerados como aceptables con una puntuación igual o superior a 12. Este porcentaje era similar en el caso de los patólogos (93,44%). El 76,27% de los técnicos y el 75,40% de los patólogos consideraron sus inmunotinciones como óptimas o casi óptimas (puntuación igual o superior a 16).

**Patol. Linfoide Ronda 4
CD5 Control GCP**

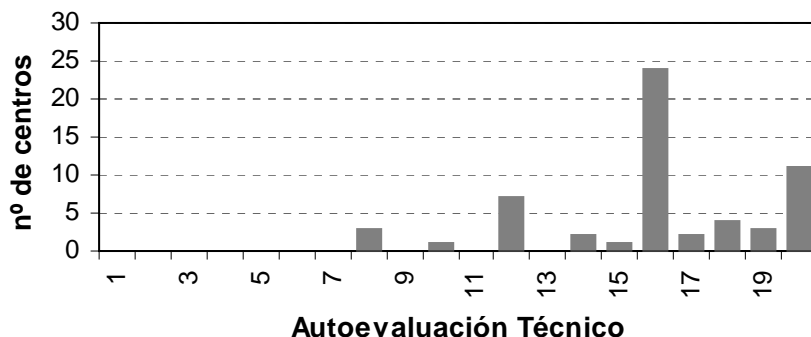


**Patol. Linfoide Ronda 4
CD5 Control GCP**

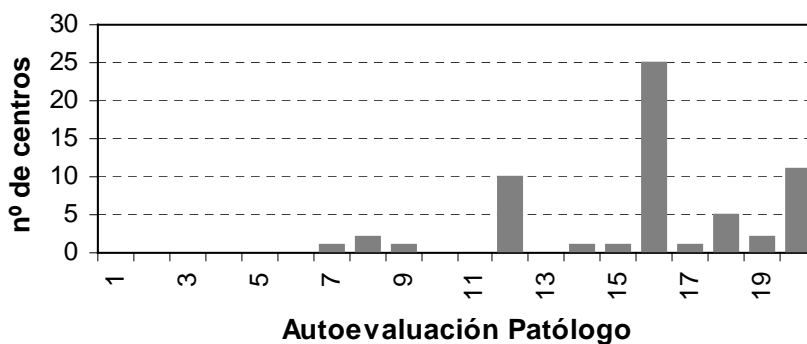


La autoevaluación de los controles locales resultó en porcentajes muy similares (93,10% y 93,33% las puntuaciones ≥ 12 para técnicos y patólogos, respectivamente; 75,86% y 73,33% las puntuaciones ≥ 16 para técnicos y patólogos, respectivamente).

**Patol. Linfoide Ronda 4
CD5 Control Local**

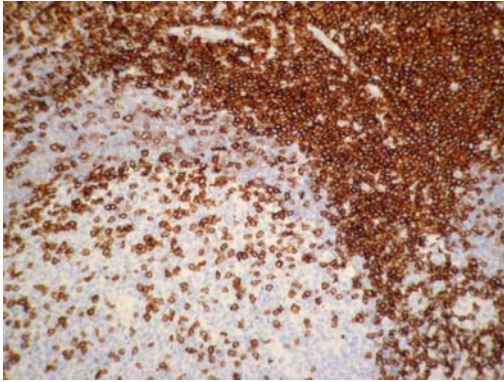


**Patol. Linfoide Ronda 4
CD5 Control Local**



Inmunotinción óptima

En el tejido amigdalare se consideró una inmunotinción óptima la que mostraba inmunorreactividad de las células diana para CD5 en número e intensidad adecuados (patrón de membrana en linfocitos T maduros, más débil en algunas subpoblaciones de linfocitos B), y ausencia de reactividad en otros elementos tisulares. Además se valoró la ausencia de fondo, el contraste adecuado, la integridad del tejido y la correcta manipulación histotécnica.



Inmunotinción óptima para CD5, puntuación 19/20 sobre control GCP (amígdala). Intensa reactividad de linfocitos T y más débil en subpoblaciones de linfocitos B (manto).

Mejores métodos

Con puntuación 19 sobre control GCP:

1. Pretratamiento: Recuperación con calor en Módulo PT (LabVision), durante 20 min, en tampón EDTA pH 8. Anticuerpo primario: Clon 4C7 (Novocastra), dilución 1:50, incubación 1 hora a temp ambiente. Método: Envision+ (Dako).
2. Pretratamiento: Recuperación con calor en horno microondas doméstico, durante 15 min, en tampón Tris/EDTA pH 9. Anticuerpo primario: Clon SP19 (Master Diagnostica), prediluido, incubación 30 min a temperatura ambiente. Método: LSAB (Dako), en AutoStainer (Dako).

Con puntuación 20 sobre control local y 18 sobre control GCP:

1. Pretratamiento: Digestión enzimática más recuperación con calor en tampón CC1 (pH 8,1) de Ventana. Anticuerpo primario: Clon 4C7 (Novocastra), prediluido. Método: Sistema Iview en Benchmark XT (Ventana).
2. Pretratamiento: Recuperación con calor en olla a presión, 2 min en tampón citrato pH 6. Anticuerpo primario: Clon 4C7 (Novocastra), dilución 1:25, incubación 25 min a temperatura ambiente. Método: ChemMate SAB (Dako) en Horizon TechMate.

Comentarios

La evaluación de las inmunotinciones para CD5 ha contado con una participación del 79,5% de los laboratorios, comparativamente similar al de la participación para CD3 (80,2%) en la pasada ronda del programa GCP (marzo 2006). El 77,2% de los controles GCP (amígdala) fueron evaluados con una puntuación igual o superior a 12 (aceptable). El 39,9% fueron consideradas como óptimas/casi óptimas con puntuación igual o superior a 16. Los controles locales, en su mayoría también secciones de amígdala, obtuvieron puntuaciones más bajas, especialmente en el rango óptimo. En los casos con puntuación inferior a 12 (no aceptable) los problemas más frecuentes son los causados por inmunotinción débil en las células diana. La inmunotinción debe ser demostrada con intensidad en la membrana de los linfocitos T maduros del tejido control, pues siendo más débil en el contexto de algunas neoplasias B (linfoma de células del manto, LLC), una inmunotinción débil para CD5 podría perder considerablemente su utilidad diagnóstica. Todos los laboratorios participantes emplearon métodos de recuperación antigénica, en general solo inducida por calor (sin tratamiento enzimático). Aproximadamente la mitad de los laboratorios emplean tampones a pH 6, y la otra mitad tampones a pH alto (8-9). El 63% de los laboratorios con puntuaciones óptimas o casi óptimas (≥ 16), emplearon tampones a pH alto. Contrariamente, el 64% de los laboratorios con inmunotinciones no aceptables (< 12) emplearon tampones a pH 6. Respecto a los clones utilizados, mayoritariamente se empleó el clon 4C7 de diversas marcas (70,7% de los laboratorios participantes), seguido del clon CD5/54/F6 (16,9%), el SP19 (9,2%), y otros (3,2%). La mayoría de los laboratorios con puntuaciones óptimas o casi óptimas emplearon el clon 4C7 (24 de 26) y solo dos de ellos emplearon SP19 y CD5/54/F6. Los resultados dispares entre laboratorios empleando el mismo clon demuestran que es fundamental ajustar los procedimientos en cada laboratorio.