



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 7

**Antígeno probado:** CD4

**Tejido probado:** Amígdala palatina.

**Instrucciones:** Los participantes fueron invitados a demostrar mediante inmunohistoquímica, la expresión de CD4 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.

**Número de laboratorios participantes:**

-Remitidos: 88

-Recibidos: 47, 53'4% (control GCD) y 46, 52'3% (control local)

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

CD4 es una glicoproteína transmembrana de cadena simple que tiene un peso molecular de 55-60 KD. Está implicada en la diferenciación tímica y en los mecanismos de reconocimiento antigénico de la respuesta inmune, actuando como correceptor en la activación de células T inducida por el antígeno mayor de histocompatibilidad de clase II.

Se expresa en linfocitos T(helper/inductores) que constituyen algo más de la mitad de linfocitos periféricos, en el 80% de timocitos y, en menor medida, en monocitos/macrófagos, células de Langerhans y otras células presentadoras de antígeno. No se expresa en linfocitos B, granulocitos ni plaquetas. La mayoría de linfomas de célula T periférica, incluida la micosis fungoides, expresa CD4.

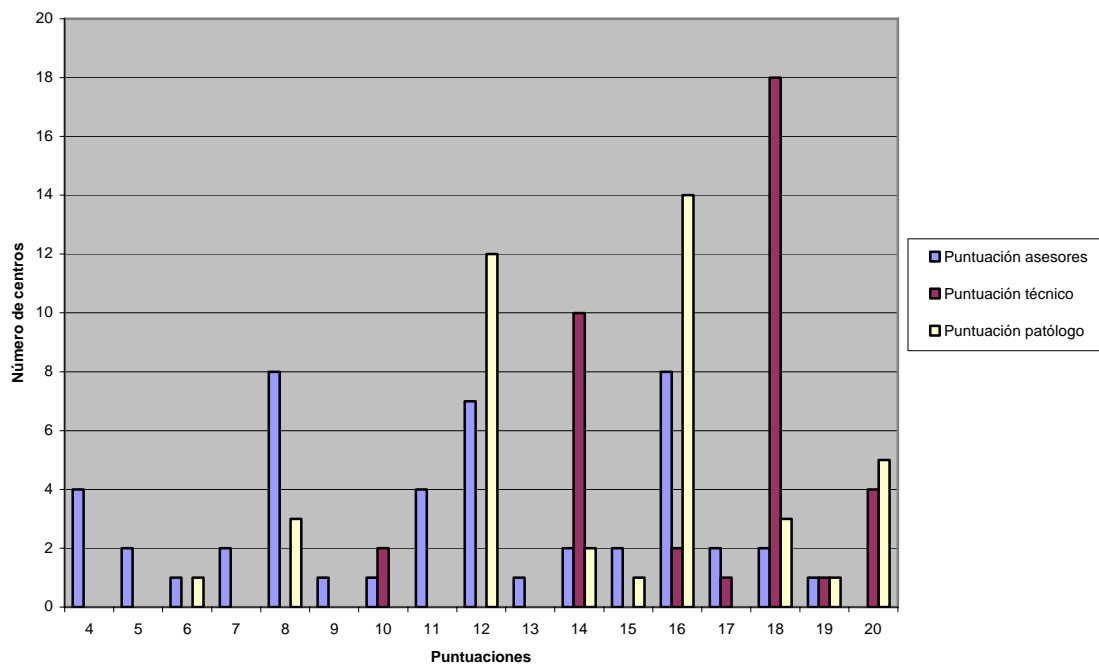
En el corte control enviado (amígdala palatina) CD4 muestra expresión de membrana en linfocitos T de la región paracortical. En centros germinales no se observa expresión más que en aislados linfocitos y en menor medida en macrófagos. También se observa en células aisladas del manto y en ocasionales linfocitos intraepiteliales del tejido amigdalal.

Se valoraron los estudios inmunohistoquímicos en una escala de 1 a 5 siguiendo los siguientes criterios:

1. Ausencia de discriminación.
2. Expresión parcial: ausencia de discriminación en algún área (vgr. no expresión en macrófagos o en las ocasionales células T del centro folicular, del manto o intraepiteliales).
3. Estudio de expresión adecuado para propósitos de diagnóstico. Discriminación en todas las áreas. Ausencia de expresión en células B, granulocitos y plaquetas.
4. Igual que el anterior pero con calidad superior calidad técnica (expresión de membrana, ausencia de difusión, contratinción adecuada)
5. Calidad técnica excelente.

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

7ª Ronda control GCP



Considerando como aceptable una puntuación igual o superior a 12, el 55'3% de las preparaciones recibidas (26 de 47) fueron consideradas como tales. El 27'6% (13 de 47) fueron consideradas de calidad superior (puntuación superior a 16). No se recibió ninguna preparación que fuese calificada como óptima (puntuación igual a 20).

El principal defecto reseñado por los asesores en las preparaciones con puntuación subóptima fue la ausencia total de tinción, la falta de discriminación por exceso de fondo y la tinción muy 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 mismo centro remitió más de una preparación.

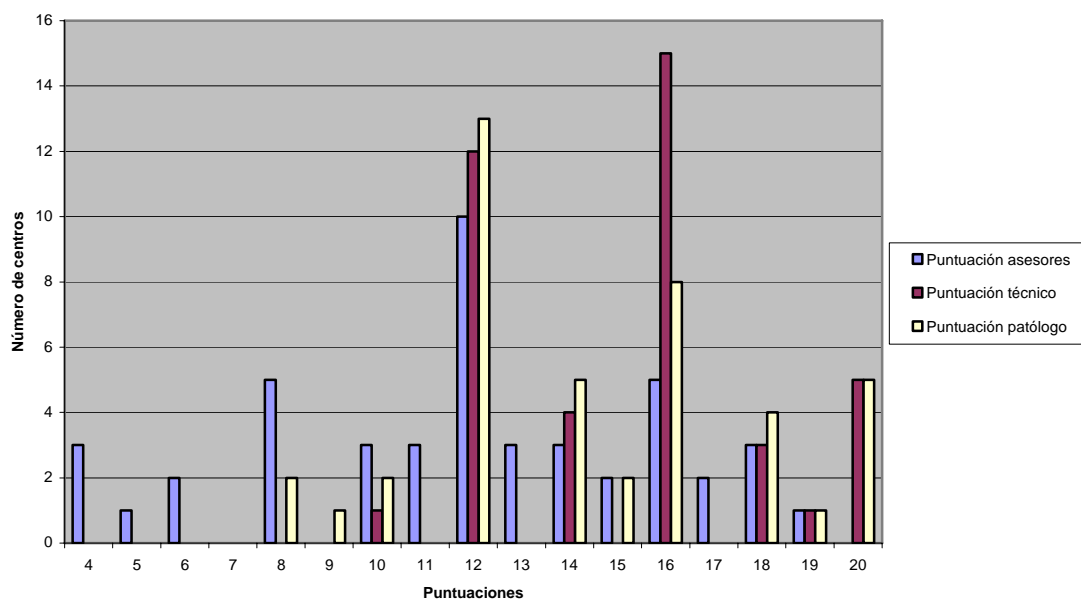
En un caso se utilizó un anticuerpo diferente del solicitado.

El gráfico pone de manifiesto la discordancia entre las puntuaciones de la autoevaluación tanto de técnico como de patólogo locales con respecto a las puntuaciones resultado de la evaluación de los asesores. El 95'5% de los técnicos y el 90% 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). El 69'7% de los técnicos y el 55'8% de patólogos evaluaron sus preparaciones como de muy buena calidad o excelentes (puntuaciones iguales o superiores a 16), visión "optimista" que, una vez más, contrasta con la de los asesores ( poco más de la mitad fueron consideradas como aceptables, sólo el 27'6% de las preparaciones fueron consideradas con calidad superior, y ninguna preparación fue considerada de calidad óptima).

#### Estudio de los controles locales:

Se recibieron 46 preparaciones, de las que el 78% (36) correspondió a amígdala palatina. El resto envió cortes de apéndice cecal, ganglio linfático, piel con infiltrados linfocitarios y un tissue-array. En ningún caso se consideró que el control fuese inadecuado.

Gráfico control local



El 63% de las preparaciones (29 de 46) fueron consideradas por los asesores, de calidad adecuada para diagnóstico (puntuación superior a 12). El 23'9% (11 de 46)

fueron consideradas de calidad buena o muy buena (puntuación de 16 a 19). Tampoco en los controles locales se valoró ninguna preparación como de calidad excelente por parte de los asesores (puntuación igual a 20).

En la autoevaluación de los controles locales, el gráfico vuelve a poner de manifiesto una evidente "desviación a la derecha" (hacia los valores más altos) en la valoración de técnicos y patólogos con respecto a las valoraciones de los asesores. En el 97'7% de las valoraciones de los técnicos y el 90% de los patólogos las preparaciones fueron consideradas como adecuadas para diagnóstico. El 56'8% de los técnicos y el 43% 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).

#### **Calidad superior:**

Como ya hemos señalado, no se consideró como óptima (puntuación igual a 20) ninguna de las preparaciones recibidas, ni en los controles enviados por el programa ni en los controles locales. En los casos mejor tecnicados había una ligera tinción de fondo, en especial en centros germinales. Los linfocitos del área paracortical, algunos (aislados) linfocitos del manto y ocasionales dentro del centro germinal mostraban expresión de CD4 en patrón lineal, continuo, de membrana. Los macrófagos del centro germinal y las células dendríticas mostraban una señal de menor intensidad que los linfocitos.

#### **Tecnificación más frecuentemente utilizada:**

Según la información suministrada por los laboratorios participantes, el método más frecuentemente utilizado para recuperación antigénica fue la olla a presión (46%), el método de detección más frecuente fue Envision (40%), y el sistema de automatización más utilizado Dako autostainer (32%).

#### **Mejores métodos:**

#### **Puntuación 19/20 en las preparaciones del GCP:**

**Método:** ABC Streptavidina.

**Automatización:** Dako autostainer.

**Digestión enzimática:** No.

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

**Tampón y pH:** No especificado.

**Anticuerpo primario:** Máster Diagnóstica Clon 4b12 prediluido, 30 minutos a temperatura ambiente.

**Cromógeno:** DAB. Proveedor Dako (catálogo k 3468). 10 minutos temperatura ambiente.

### Puntuación 18/20 en las preparaciones del GCP:

**Método:** Envision

**Automatización:** Dako autostainer.

**Digestión enzimática:** No.

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

**Tampón y pH:** TBS pH 7'4.

**Anticuerpo primario:** Novocastra. Clon 1F6, dilución 1:10, 30 minutos a temperatura ambiente

**Cromógeno:** DAB. Proveedor Dako (catálogo "kit"). 7'5 minutos a temperatura ambiente.

### Puntuación 19/20 en las preparaciones del control local:

**Método:** PAP.

**Automatización:** Ventana Benchmark.

**Digestión enzimática:** No consta.

**Recuperación antigénica con calor:** No consta.

**Tampón y pH:** No especificado.

**Anticuerpo primario:** Novocastra Clon 1F6, dilución 1:10, no consta tiempo ni temperatura de incubación.

**Cromógeno:** No consta.

### Puntuación 18/20 en las preparaciones del control local:

**Método:** Envision

**Automatización:** Dako autostainer.

**Digestión enzimática:** No.

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

**Tampón y pH:** TBS pH 7'4.

**Anticuerpo primario:** Novocastra. Clon 1F6, dilución 1:10, 30 minutos a temperatura ambiente

**Cromógeno:** DAB. Proveedor Dako (catálogo "kit"). 7'5 minutos a temperatura ambiente.

### **Comentarios:**

La escasa disponibilidad de este anticuerpo, según se desprende de la limitada respuesta, hace que sea difícil establecer conclusiones de consistencia estadística significativa. Sin embargo, entre los mayores defectos destacan la falta total de tinción y la tinción irregular, atribuible quizá a no adecuada recuperación antigénica. En el grupo de laboratorios con peores resultados, no hemos encontrado (según los datos suministrados) relación con ningún dato metodológico diferencial (recuperación antigénica, método, detección, automatización) con el grupo de mejores resultados, por lo que concluimos que estos defectos están más en

relación con falta de puesta a punto de la técnica que con el uso de uno u otro anticuerpo primario o metodología.