



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 LINFOIDE. Ronda nº 8

Antígeno probado: CD43

Introducción

CD43 reconoce una proteína rica en ácido siálico presente en la superficie de (fundamentalmente) linfocitos, constituida por tres dominios: extracelular de 235 aminoácidos, transmembrana de 23 e intracitoplásmico de 123, todos codificados por un único exón. Aunque su función biológica se desconoce en parte, se asocia a activación y proliferación de monocitos y linfocitos T periféricos; también parece jugar un papel en procesos de movimiento y adhesión celular (homo y heterotípica.)

A nivel inmunohistoquímico se observa expresión en linfocitos T, celularidad mieloide y megacariocítica, macrófagos (aunque se ha descrito una inmunotinción en macrófagos de ganglio linfático más que en los de amígdalas), así como en un porcentaje de células plasmáticas; también se ha observado inmunotinción en sistema nervioso central. En patología tumoral se evidencia inmunotinción en procesos linfoproliferativos tanto T como B (utilidad en linfomas B de bajo grado) así como en otras neoplasias hematológicas (sarcoma granulocítico, mieloma, cuadros mielodisplásicos, etc.)

Control GCP: amígdala palatina

Instrucciones

Los participantes fueron invitados a teñir con CD43 la preparación control (GCP) remitida por el programa (amígdala palatina fijada en formol al 10% a pH

7 durante 24 horas) y su propia preparación control, devolviendo ambas para su evaluación.

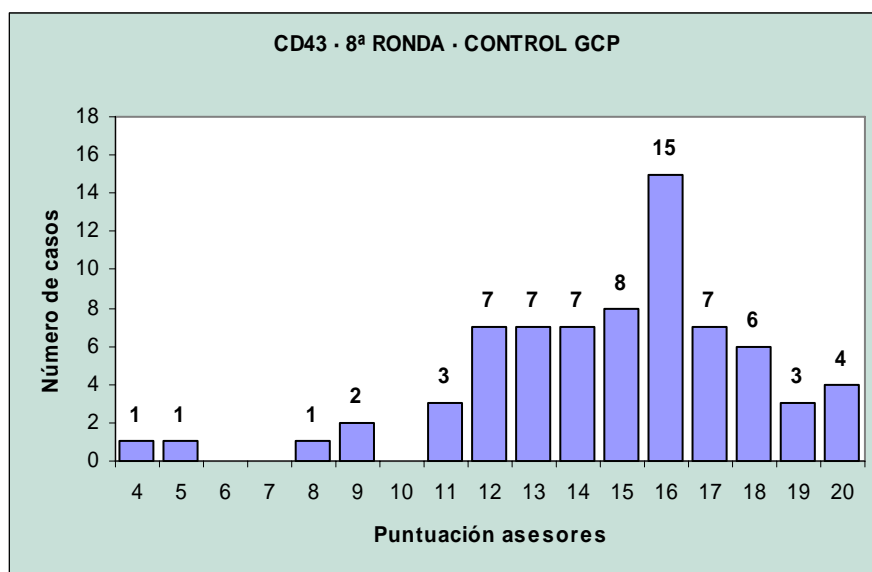
Número de laboratorios participantes

- Remitidos: 89
- Contestados:
 - Control del programa: 72 (81%)
 - Control local: 70 (79%)

Resultado de la evaluación

Control del programa (GCP)

Se consideró necesaria una inmunotinción fundamentalmente de membrana en celularidad linfoide (de zona) T, pudiendo también observarse en componente macrofágico.

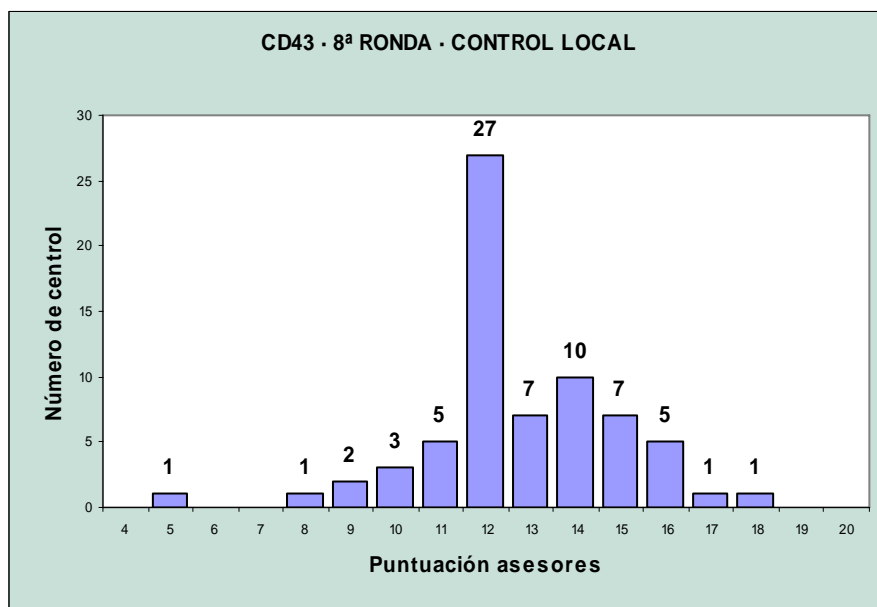


Devolvieron el control 72 laboratorios, alcanzando la mayoría (64 laboratorios, 89%) una inmunotinción de calidad aceptable o superior; en 35 centros la valoración del control (49%) fue optima o cercana (superior a 15.)

Los problemas mas frecuentemente observados fueron una inmunotinción ligera, en ocasiones irregular, una contratinción escasa y en menor medida una tinción de fondo ligera más que moderada.

Control local

Del total de 70 laboratorios que remitieron control local, 58 obtuvieron una puntuación de 12 (considerada como aceptable) o superior en la evaluación realizada por los asesores; ello supone un 83% de los laboratorios.



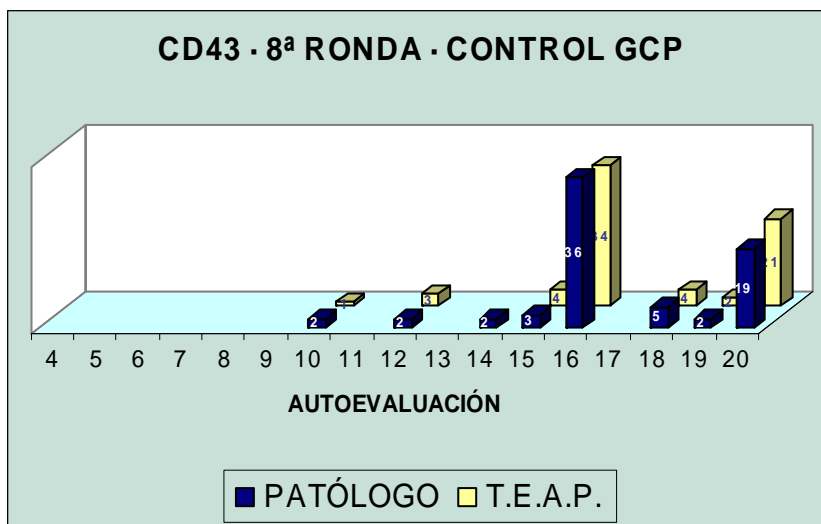
Únicamente siete laboratorios consiguieron una puntuación de 16-18, considerables como óptimas o cercana (correspondiente a un 10% de los centros). Se observa por lo tanto una diferencia apreciable con los resultados obtenidos con el control del programa, en el que casi la mitad de los controles (49%) obtuvieron dicha calificación.

La principal causa de evaluación desfavorable fue una tinción ligera, irregular o inadecuada, seguida de una tinción de fondo ligera o moderada. Otras causas menos frecuentes fueron un contraste escaso, que dificulta la valoración del tejido control, así como un pretratamiento inadecuado.

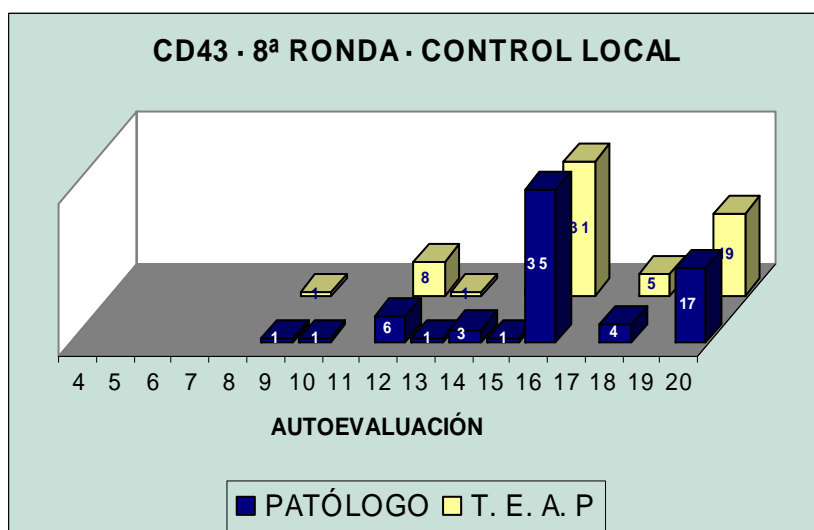
La mayoría de los laboratorios (55, correspondiendo a un 74%) emplearon amígdala como tejido control, lo que facilitó la valoración por parte del equipo asesor. En 6 casos no se especificó el tejido remitido, en otros 5 correspondía a ganglio linfático no tumoral, en 3 casos a diversos linfomas (ganglionares y cutáneo) y en 2 casos a apéndice cecal.

Autoevaluación

Del total de laboratorios que remitieron el **control GCP**, todos completaron la autoevaluación a excepción de un patólogo y tres técnicos de laboratorio. Así pues, los porcentajes de participación fueron, respectivamente, del 99% (71 patólogos) y el 96% (69 T. E. A. P.)



Salvo dos patólogos y un técnico, todos consideraron aceptable (puntuación igual o superior a 12) el resultado obtenido sobre el **control GCP**, lo que supone un 97% de patólogos y un 99% de técnicos. La valoración estimada por el equipo asesor fue menor, aunque no excesivamente: 89%. Sí se aprecia una diferencia significativa en los casos de autoevaluación óptima o cercana, que alcanza el 87% en el caso de los patólogos o el 88% en el caso de los técnicos versus solamente un 49% que consideró el equipo asesor.



Con respecto a la autoevaluación del **control local**, los porcentajes de participación fueron similares a los del control GCP. La evaluación realizada por patólogos fue superponible a la de técnicos (97% de centros con autoevaluación al menos aceptable y 81-82% de óptima o cercana) aunque divergente con respecto a la considerada por el equipo asesor (83% de centros con inmunotinción aceptable, y 10% de inmunotinción óptima o cercana.)

La consulta de las imágenes de inmunotinción procedentes de esta octava ronda de panel linfoide, que están disponibles en la página *web* de la SEAP, podrían ser útiles como herramienta de mejora en muchos de los laboratorios participantes. Puede dar una idea del objetivo a alcanzar en la inmunotinción para CD43 con respecto a intensidad de tinción, contratinción, etc.

Inmunotinción óptima y anticuerpos empleados

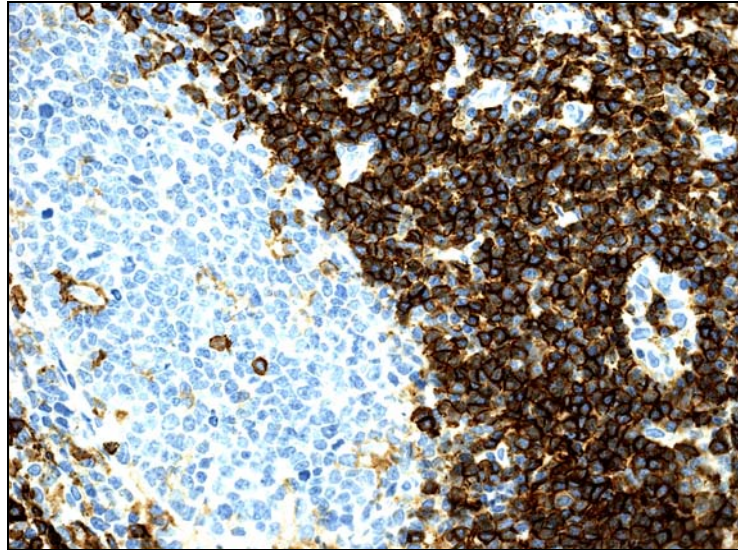
Los anticuerpos empleados han sido los que se especifican en la siguiente tabla:

ANTICUERPO	ORIGEN	CENTROS
DFT-1	<i>DAKO, NOVOCASTRA, ZYMED</i>	32
MT1	<i>DAKO, MENARINI-NOVOCASTRA, BIOGENEX</i>	18
C7-B10-B6	<i>MASTER DIAGNÓSTICA</i>	12
NO ESPECIFICADO	<i>VARIOS</i>	7
93F/D4/B1	<i>C.N.I.O.</i>	2
L60	<i>BD-PHARMINGEN</i>	1

En 21 centros se emplearon anticuerpos de Dako, en 15 de Menarini-Novocastra, en 13 de Vitro-Master Diagnóstica, en 4 de Biogenex y en 5 de Zymed, del CNIO o de Pharmingen. En un centro no se especificó el anticuerpo empleado.

Consideramos una inmunotinción óptima (ver figura) la que mostraba una inmunoreactividad patente, fundamentalmente de membrana en células diana (linfocitos T, apreciando controles con inmunotinción en macrófagos en algunos casos, sin que ello modificase la valoración, dada la variabilidad con que este compartimento celular reacciona con CD43 según datos de la literatura) con

una contratinción adecuada y sin tinción de fondo ni de otros elementos celulares (a excepción de neutrófilos y células plasmáticas aisladas). También se tuvo en cuenta la integridad del tejido y la ausencia de artefactos histotécnicos y de recuperación antigénica.



En la imagen, realizada con objetivo de 40 aumentos, se observa una patente inmunotinción, marcando celularidad linfoide T básicamente en región interfolicular, y más débilmente de macrófagos centrogerminales. Ausencia de tinción de fondo, tejido conservado y con contratinción adecuada.

Metodología con mejores resultados

Con las tres clonas más ampliamente empleadas por los diversos centros (MT1, DF-T1 y C7-B10-B6) se obtuvieron puntuaciones de 20 en el control GCP y de entre 16 y 18 con los controles locales.

En la tabla de la siguiente página pormenorizamos la metodología empleada por los centros que obtuvieron mejor puntuación en la valoración efectuada por el equipo asesor, esto es, cuatro centros con puntuación máxima (20) en el control GCP y dos centros con puntuaciones de 17 y 18 en el control local.

Metodología empleada por los centros con mejor valoración en inmunotinción para CD43 en controles GCP y locales:

	MÉTODO	TAMPÓN	ANTICUERPO	CASA	INCUBAC	MÉTODO	AUTOMATIZACIÓN
GCP	OLLA	CITRATO pH 8	C7-B10-B6	MASTER	?	DAKO ENVISION	DAKO TECHMATE 500
	OLLA	CITRATO pH 6	C7-B10-B6	MASTER	30'	DAKO (?)	DAKO AUTOSTAINER
	OLLA 2'	TAMPÓN 0,1 M pH 6	DFT-1	DAKO	30'	DAKO LSAB+	DAKO AUTOSTAINER PLUS
	OLLA 2'	CITRATO pH 6	MT1	DAKO	20'	NO ESPECIFIC.	DAKO AUTOSTAINER
LOCAL	OLLA 3'	CITRATO pH 6	MT1	NOVOCASTRA	30'	DAKO ENVISION	DAKO AUTOSTAINER PLUS
	OLLA 1'	CITRATO pH 6	DFT-1	DAKO	20'	DAKO ENVISION	DAKO AUTOSTAINER PLUS

En todos los casos se emplearon anticuerpos prediluidos con incubación a temperatura ambiente.

Comentarios

En resumen los resultados son aceptables para diagnóstico, siendo la principal deficiencia encontrada la intensidad de la tinción conseguida. Parece poco probable que ello pueda inducir a crear falsos negativos y contribuir a errores diagnósticos, salvo en muy contados centros en los que se ha observado una inmunotinción muy ligera o prácticamente inexistente. La metodología empleado por estos centros no difiere de la generalizada (recuperación antigénica con calor, en olla a presión, etc.)

Es generalizada la recuperación antigénica con calor, tanto en olla a presión, con diversos tampones (citrato, EDTA) y tiempos, como en inmunoteñidor u horno microondas; algunos centros emplean el autoclave o el baño. No se utiliza la digestión enzimática.

Por último, recomendamos la amígdala como control en el panel linfoide, insistiendo en obtener una adecuada intensidad de inmunotinción, una ausencia de tinción de fondo y una contratinción adecuada.