

**IMMUNOHISTOQUÍMICA**  
**PRINCIPIOS BÁSICOS**  
Luis E. Ferrer Torres, MD FCAP  
Immunopathology and Molecular Pathology  
Laboratory

---

---

---

---

---

---

---

---

**INMUNOHISTOQUÍMICA**

- o Es una técnica para identificar componentes celulares o de los tejidos basándose en el principio de las interacciones entre los antígenos y anticuerpos
  - **Antígenos:** una molécula que induce la formación de un anticuerpo y que tiene uno o más lugares donde un anticuerpo puede unirse a ella. Esas regiones de la molécula que tienen la capacidad de unirse al anticuerpo esta formado por secuencias de amino ácidos o carbohidratos y se conocen como **epitopes**
  - **Anticuerpos:** Un tipo de proteína sérica que se conoce como inmunoglobulina

---

---

---

---

---

---

---

---

**Antigens**

**Especificidad**  
-Cuan selectivo es el anticuerpo en adherirse a un antígeno

**Sensitividad**  
- Cuanto antígeno es capaz el anticuerpo de detectar. Ej. Una técnica más sensitiva es capaz de detectar menos antígeno y viceversa...

Antigen  
Antigen-binding site

**Antibody**

---

---

---

---

---

---

---

---

TÉCNICA DE IHQ – *TÉCNICA GENERAL*

1. Corte	6. Sistema de detección o visualización
2. Deparafinar e hidratar	• Cromógeno para AP o para HRP
3. Recuperación de antígeno o antígeno retrieval	7. Contraste
4. Bloqueo de actividad o afinidad endógena	8. Montaje: base acuosa o resina
5. Anticuerpo primario	

---

---

---

---

---

---

---

---

TÉCNICA DE IHQ

- o **Corte**
  - Agua destilada
  - Laminillas cargadas
- o **Deparafinar e hidratar**
  - Temperatura NO >60° C
  - Nuevas soluciones permiten que se lleve a cabo en el mismo paso de recuperación de antígeno

---

---

---

---

---

---

---

---

TÉCNICA DE IHQ

**Recuperación de antígeno:** *el proceso de fijar los tejidos puede ocultar o alterar los epítopes de las moléculas*

1. Técnicas: químicas o enzimáticas
2. Químicas:
  1. Depende de amortiguador
    1. pH bajo: citrato pH 6.0
    2. alto pH: EDTA pH 9.0
  2. Técnica de aplicación: incubación, olla de presión, vapor...
3. Enzimáticas: tripsina, proteinasa K...

---

---

---

---

---

---

---

---

TÉCNICA DE IHQ

**Métodos de detección o visualización**

- o Directo
- o Indirecto
- o APA APAP
- o Avidina-Biotina
- o Dextran

---

---

---

---

---

---

---

---

**a Direct method**

**b Indirect method**

Peroxidase-conjugated rabbit anti-human antibody

Peroxidase-conjugated swine anti-rabbit IgG

Rabbit anti-human antibody

Ag

TÉCNICA - DIRECTA

- El anticuerpo está ligado directamente al marcador que detectará la presencia o no del antígeno para el cual está dirigido el anticuerpo
- Baja sensibilidad
- Todavía la utilizamos para IF

---

---

---

---

---

---

---

---

**a Direct method**

**b Indirect method**

Peroxidase-conjugated rabbit anti-human antibody

Peroxidase-conjugated swine anti-rabbit IgG

Rabbit anti-human antibody

Ag

TÉCNICA - INDIRECTA

- Se utiliza un anticuerpo primario de otra especie diferente a la humana contra el antígeno que está tratando de identificar (ratón o conejo)
- Se utiliza un segundo anticuerpo (anticuerpo secundario) contra la especie de animal del cual este creado el anticuerpo primario y este tiene el visualizador
- Más sensible

---

---

---

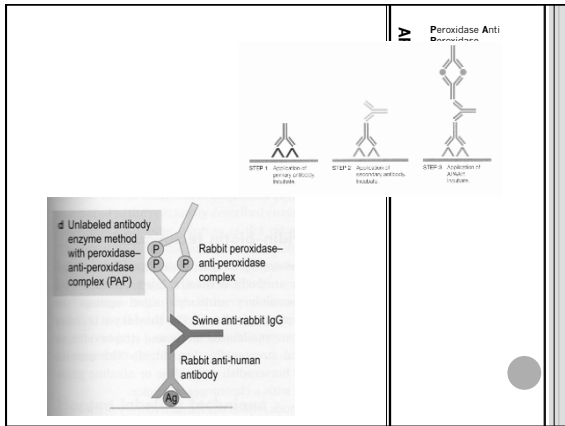
---

---

---

---

---



---

---

---

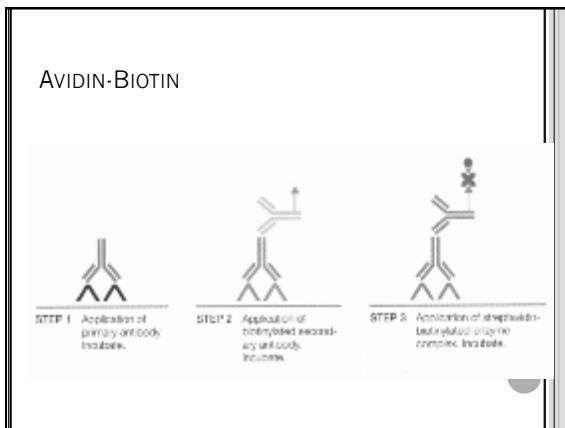
---

---

---

---

---



---

---

---

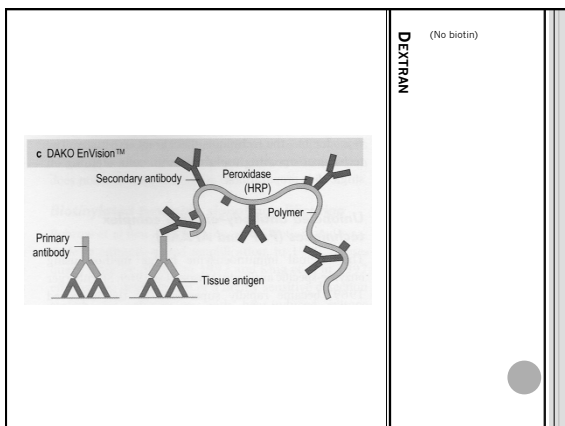
---

---

---

---

---



---

---

---

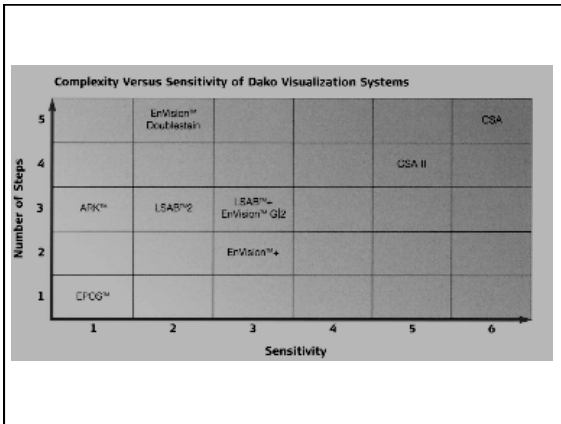
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

VARIABLES QUE AFECTAN EL PROCESO DE INMUNOHISTOQUÍMICA

- o Pre-analítica
  - Fijación
    - o Tipo: formalina amortiguada y neutralizada 10%(V/V)
    - o Tiempo 6-48 horas
  - Temperatura
    - o <60° C
  - Deshidratación
    - o Alcoholes graduados
  - Clarificación
  - Impregnación

---

---

---

---

---

---

---

---

VARIABLES QUE AFECTAN EL PROCESO DE INMUNOHISTOQUÍMICA

- o Analítica
  - Manual
  - Automatizado
  - Sistema de detección o visualización
  - Efecto de orilla
  - Efecto de secado
  - Efecto de lavado incompleto

---

---

---

---

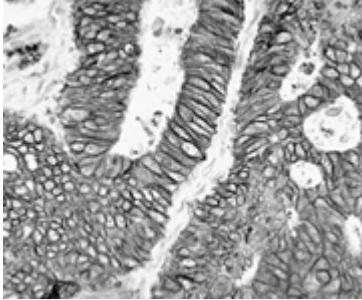
---

---

---

---

EGFR



---

---

---

---

---

---

---