

PUESTO DE
INMUNOHISTOQUÍMICA E
HISTOQUÍMICA



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

POE_HUT _AP_0007_V2

Fecha entrada en vigor: 2022

FECHA	REALIZADO:	REVISADO:	APROBADO:
NOMBRE	MERCEDES VALENZUELA ALCARAZ LOURDES BOBIS GÓMEZ	EMILIA MEDINA ESTEVEZ	MARIA DEL MAR BERENGUEL IBAÑEZ
CARGO	TEAP	RESPONSABLE DE CALIDAD	DIRECTORA UGC ANATOMIA PATOLOGICA
FIRMA			
Responsable de revisión			Fecha de revisión
Lugar de archivo INDALO ANATOMÍA			Responsable custodia RESPONSABLE DE CALIDAD



A. Inmunohistoquímica

1. INTRODUCCIÓN

La inmunohistoquímica (IHQ) es una técnica esencial y de uso rutinario en anatomía patológica. Contribuye en el diagnóstico específico de las enfermedades, en particular las neoplásicas.

Permite una adecuada clasificación en función de su origen (tales como carcinoma, melanoma, linfoma, etc.) brindando información pronóstica en la que sus resultados, evaluados en el contexto clínico, contribuyen a la elección del tratamiento de los pacientes.

Esta técnica se basa en la alta especificidad y afinidad de la reacción antígeno-anticuerpo por lo que permite, mediante el empleo de anticuerpos específicos y sistemas de detección, determinar la expresión de biomarcadores.

Se puede realizar sobre tejidos en fresco, fijados en formol y coágulos citológicos incluidos en parafina, permitiendo la evaluación simultánea de la morfología. Es una técnica compleja, en la cual el resultado final está influenciado por múltiples parámetros de las fases preanalítica, analítica y post-analítica.

Dependiendo de la selección y el rendimiento de estos parámetros, el resultado final de la técnica utilizando el mismo anticuerpo primario puede mostrar un rango de negativo a positivo para el antígeno objetivo. Para que su empleo sea de máxima utilidad y los resultados obtenidos sean reproducibles y confiables es imprescindible la estandarización de cada uno de los pasos o fases desde la obtención de la muestra, con la adecuada fijación de los tejidos, hasta el ajuste de la técnica, lectura y valorización de los resultados obtenidos a los criterios establecidos mediante controles de calidad internos y externos.

Hay que destacar los avances tecnológicos por los que se ha ido desarrollando la inmunohistoquímica. En los últimos 10 años, han ocurrido



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

avances tecnológicos que permiten:

- ✓ Hacerla reproducible.
- ✓ Afinar y calibrar adecuadamente los procedimientos.
- ✓ Armonizar y optimizar la difusión de los procedimientos entre distintos laboratorios.
- ✓ Estandarizar y automatizar el método específico.

2. OBJETO

Manejo homogéneo por parte del TEAP sobre el funcionamiento de las máquinas en la sala de inmunohistoquímica.

3. ALCANCE

Todos los TEAP.

4. EQUIPAMIENTO NECESARIO

- Reactivos específicos de cada máquina
- EPI's
- Anticuerpos (concentrados y no concentrados) para poder realizar la tinción de inmunohistoquímica.

5. DESCRIPCIÓN SOBRE EL PROCEDIMIENTO

➤ PROCESAMIENTO EN EL BOND III

- A primera hora de la mañana, el técnico encargado del puesto de inmunohistoquímica, sacará un listado de trabajo a través del programa con el que nuestro laboratorio trabaja; de VITROPATH. El procedimiento es el siguiente:
- Una vez introducida la contraseña, clicamos en la opción "**gestión de laboratorio**".



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA



- A continuación, seleccionamos grupo.

Salida	Estudio	Muestra	Bloque	Técnica	Grupo	F.Petición	Peticionario	Corte	Notes
B21-038-4C	A	1	1	ME_AN A (M2-7C10+M2-9...	IHQ	03/09/202...	Cantón Yebra, María Teresa		
B21-038-4C	A	1	1	HMB45	IHQ	03/09/202...	Cantón Yebra, María Teresa		
B21-038-4C	A	2	2	KI-67	IHQ	03/09/202...	Cantón Yebra, María Teresa		
B21-038-4C	A	2	2	HMB45	IHQ	03/09/202...	Cantón Yebra, María Teresa		
B21-038-4C	A	2	2	ME_AN A (M2-7C10+M2-9...	IHQ	03/09/202...	Cantón Yebra, María Teresa		
B21-038-41	A	1	1	ME_AN A (M2-7C10+M2-9...	IHQ	03/09/202...	Cantón Yebra, María Teresa		
B21-038-41	A	2	2	ME_AN A (M2-7C10+M2-9...	IHQ	03/09/202...	Cantón Yebra, María Teresa		
B21-038-41	B	1	1	S100	IHQ	03/09/202...	Cantón Yebra, María Teresa		
B21-038-41	B	1	1	CD34	IHQ	03/09/202...	Cantón Yebra, María Teresa		
B21-038-42	A	1	1	ME_AN A (M2-7C10+M2-9...	IHQ	03/09/202...	Cantón Yebra, María Teresa		
B21-038-42	A	2	2	ME_AN A (M2-7C10+M2-9...	IHQ	03/09/202...	Cantón Yebra, María Teresa		
B21-038-42	A	3	3	ME_AN A (M2-7C10+M2-9...	IHQ	03/09/202...	Cantón Yebra, María Teresa		
03/19/2021 B21-038-45	B	7	7	TJFCGLOBULINA	IHQ	03/09/202...	Medina Estévez, Emil a	03/09/2021	
03/19/2021 B21-038-45	B	7	7	CK 19	IHQ	03/09/202...	Medina Estévez, Emil a	03/09/2021	
03/19/2021 B21-038-45	B	7	7	CD36/NCAM-1 (55D04)	IHQ	03/09/202...	Medina Estévez, Emil a	03/09/2021	
03/19/2021 C21-037765	B	-	-	CK 7	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	
03/19/2021 C21-037765	B	-	-	ANTICORPO CARCINOEMBRI...	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	
03/19/2021 C21-037765	B	-	-	CK 20	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	
03/19/2021 C21-037765	B	-	-	PS3 (SP5)	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	
03/19/2021 C21-037765	B	-	-	MUC-5A	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	
03/19/2021 C21-037765	B	-	-	CK 19	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	
03/19/2021 C21-037765	B	-	-	MUC-2	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	
03/19/2021 C21-037771	C	-	-	TDT	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	
03/19/2021 I21-070205	A	2	2	KI-67	IHQ	03/09/202...	Garcistaga Altuna, Jfigc	03/09/2021	
03/19/2021 I21-070205	A	2	2	PS3 (SP5)	IHQ	03/09/202...	Garcistaga Altuna, Jfigc	03/09/2021	

- En el campo en blanco introducimos las iniciales "HQ".

Salida	Estudio	Muestra	Bloque	Técnica	Grupo	F.Petición	Peticionario	Corte
03/09/2021 B21-007966	A	6	6	MSH6	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021
03/09/2021 B21-007966	A	6	6	PM52	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021
03/09/2021 B21-007966	A	6	6	MLH1	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021
03/09/2021 B21-007966	A	6	6	MSH2	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021
03/09/2021 B21-007992	A	4	4	CD68	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	
03/09/2021 B21-007992	A	4	4	CD1a	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	
03/09/2021 B21-007992	A	5	5	CD68	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021
03/09/2021 B21-007992	A	5	5	CD1a	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021
03/09/2021 B21-007992	A	5	5	ZIEHL-NEELSEN	HQ	03/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021
03/09/2021 B21-007993	A	1	1	CADENA LIGERA KAPPA	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021
03/09/2021 B21-007993	A	1	1	CADENA LIGERA LAMBDA	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021
03/09/2021 B21-008060	A	4	4	P40	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021
03/09/2021 B21-008060	A	7	7	P40	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

- Filtramos en el embudo de color azul.

Salida	Estudio	Muestra	Bloque	Técnica	Grupo	F.Petición	Peticionario	Corte
03/09/2021	B21-007956	A	6	MSH6	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021
03/09/2021	B21-007956	A	6	PMS2	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021
03/09/2021	B21-007956	A	6	MLH1	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021
03/09/2021	B21-007956	A	6	MSH2	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021
03/09/2021	B21-007992	A	4	CD68	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021
03/09/2021	B21-007992	A	4	CD1a	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021
03/09/2021	B21-007992	A	5	CD68	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021
03/09/2021	B21-007992	A	5	CD1a	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021
03/09/2021	B21-007992	A	5	ZIEHL-NEELSEN	HQ	03/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021
03/09/2021	B21-007993	A	1	CADENA LIGERA KAPPA	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021
03/09/2021	B21-007993	A	1	CADENA LIGERA LAMBDA	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021
03/09/2021	B21-008050	A	4	P40	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021
03/09/2021	B21-008050	A	7	P40	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021

- En el siguiente paso seleccionamos todo el listado con el ratón y le damos a imprimir.

Salida	Estudio	Muestra	Bloque	Técnica	Grupo	F.Petición	Peticionario	Corte	Notas
03/09/2021	B21-007956	A	6	MSH6	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021	
03/09/2021	B21-007956	A	6	PMS2	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021	
03/09/2021	B21-007956	A	6	MLH1	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021	
03/09/2021	B21-007956	A	6	MSH2	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021	
03/09/2021	B21-007992	A	4	CD68	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	
03/09/2021	B21-007992	A	4	CD1a	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	
03/09/2021	B21-007992	A	5	CD68	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	
03/09/2021	B21-007992	A	5	CD1a	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	
03/09/2021	B21-007992	A	5	ZIEHL-NEELSEN	HQ	03/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	
03/09/2021	B21-007993	A	1	CADENA LIGERA KAPPA	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	

- Por último, se le da salida al listado impreso. Para ello seleccionamos “salida” en la ventana de arriba.

Salida	Estudio	Muestra	Bloque	Técnica	Grupo	F.Petición	Peticionario	Corte	Notas
03/09/2021	B21-007956	A	6	MSH6	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021	
03/09/2021	B21-007956	A	6	PMS2	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021	
03/09/2021	B21-007956	A	6	MLH1	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021	
03/09/2021	B21-007956	A	6	MSH2	IHQ	02/09/202...	Sobрино Prados, Almudena	03/09/2021	
03/09/2021	B21-007992	A	4	CD68	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	
03/09/2021	B21-007992	A	4	CD1a	IHQ	02/09/202...	Velasco Albendea, Francisco Javier	03/09/2021	

- Y pulsamos la flecha azul después de haber rellenado el nombre de quien lo hace en la casilla anterior.

Salida	Estudio	Muestra	Bloque	Técnica	Grupo	F.Petición	Peticionario	Corte	Notas
A21-099014	A	3	AJ1, CD44	IHQ	03/05/202...	Gorostiza Alfaro, Ifigo			
A21-099014	A	3	CD19	IHQ	03/05/202...	Gorostiza Alfaro, Ifigo			
A21-099014	A	3	TDT	IHQ	03/05/202...	Gorostiza Alfaro, Ifigo			
A21-099014	A	3	CD33 (BBR-H2)	IHQ	03/05/202...	Gorostiza Alfaro, Ifigo			
A21-099014	A	3	CD79a/MS-1	IHQ	03/05/202...	Gorostiza Alfaro, Ifigo			
A21-099014	A	3	EMER, LMP Epitain-Her	IHQ	03/05/202...	Gorostiza Alfaro, Ifigo			
A21-099014	A	3	MLH1/MS2	IHQ	03/05/202...	Gorostiza Alfaro, Ifigo			

- Una vez que ya tenemos nuestro listado de trabajo impreso, buscamos los bloques requeridos y procedemos a cortarlos.



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

- A continuación, abrimos nuestra sesión de trabajo de **cerebro** (programa de trazabilidad con el que cuenta nuestro hospital para trabajar) y vamos escaneando el código QR de los bloques.
- Al escanear el bloque, se nos imprimirán todas las etiquetas de las técnicas (aparecen en pantalla) que aparecen en el listado previamente obtenido en Vitropath. (Imagen 1).

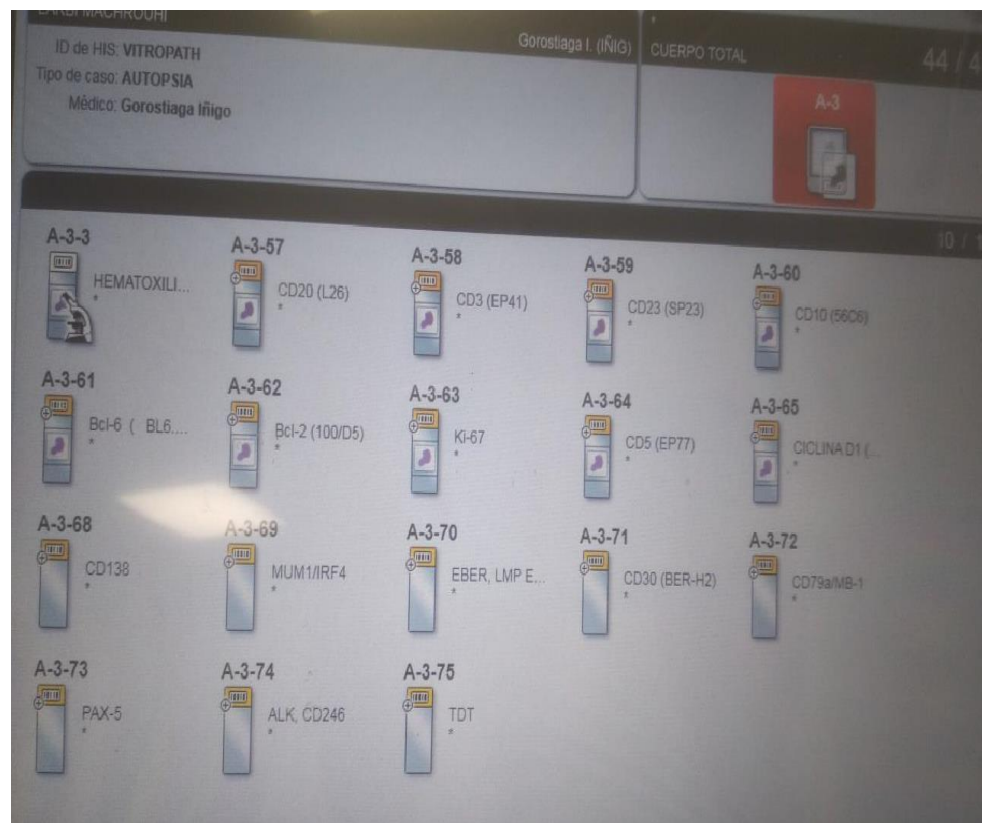


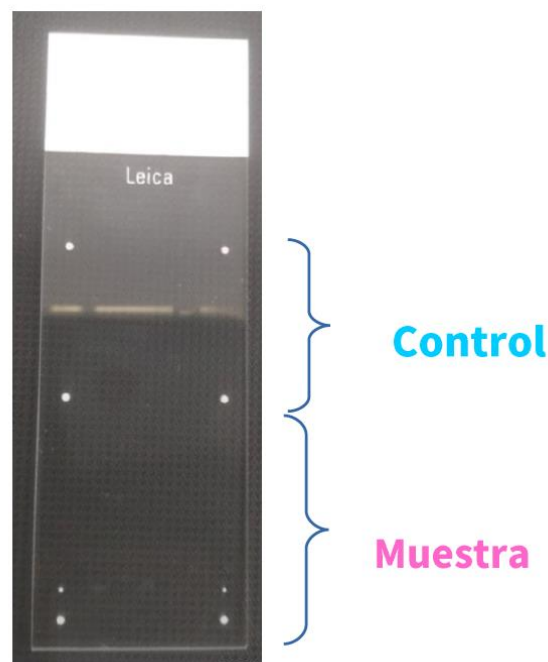
Imagen 1.

- Se corta el bloque, escaneando todas las pegatinas del caso (las cuáles disponen de un código QR) por “cerebro” y se van colocando y se van colocando los cristales con su respectivos cortes en cestas. A su vez se va comprobando que las técnicas que aparecen en la pantalla de “cerebro” coinciden con las técnicas que aparecen en el listado de Vitropath. Dicha comprobación es muy importante para que no se produzca ningún error, es decir, que el TEAP haya cortado todas y cada una de las técnicas de IHQ que el patólogo ha solicitado sin dejar ninguna atrás.



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

- Una vez que tengamos todos los bloques del listado cortados, habrá que colocar los controles positivos para cada técnica inmunohistoquímica. Dichos controles, se colocarán en la parte superior del portaobjetos, mientras que la muestra a estudiar, se colocará en la parte inferior. El listado de controles positivos de cada anticuerpo se añade en el anexo I.



NOTA: tanto la muestra como el control no pueden salir de los puntos de color blanco que delimitan el cristal. La parte que sobresalga, no será teñida.

- Introducimos los cortes en la estufa a 65^o-70^o durante 20 min para su desparafinación.
- Una vez desparafinados, se meten cada uno en la máquina correspondiente. Los IT de cada máquina vienen explicados en cada una de ellas.
- Una vez que el proceso de tinción ha finalizado, los portaobjetos se colocarán en una cestilla para su posterior deshidratación y montaje. Nuestro hospital cuenta con un tipo de teñidora en la cual, según el color de “varilla” que incorpores a dicha cestilla, hará un recorrido de



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA
tinción u otro. En el caso de la IHQ, siempre escogeremos el de color azul.



- Finalmente, cuando los cristales ya son deshidratados y montados, el TEAP los entregará al patólogo correspondiente comprobando, con en el listado de trabajo que inicialmente sacamos de VitroPath que todo esté correctamente.

CONSUMIBLES BOND III

➤ Líquidos

- **Dewax:** se envasa en un bote de litro de color rojo, solo hay que decantarlo en la garrafa de color rojo de 5 litros el Bond III



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA



- **Wash:** viene en botella de un litro concentrado. Hay que diluirlo al 1:10. Cogemos una botella de 5 litros de agua destilada, le sacamos 500ml, en una probeta y a continuación le añadimos 500ml de la botella WASH. Agitamos la mezcla y rellenamos en la garrafa de 5 litros de color verde Bond III.



- **Agua destilada:** simplemente rellenamos la garrafa de color azul del Bond III con una botella de agua destilada
- **Alcohol:** rellenamos con alcohol de 100° la garrafa de color naranja del Bond III.



- **Solución Epítotope 1:** viene en un bote de un litro de color morado oscuro y la solución ya está diluida. Para su relleno, simplemente



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

vertemos su contenido en la botella del mismo color del Bond III.



- **Solución Epítotope 2:** viene en un bote de un litro de color malva y la solución ya está diluida. Para su relleno, simplemente verteremos su contenido en la botella del mismo color del Bond III.



- **Waste Gris:** hay dos garrafas con este residuo que hay que tirar cuando estén llenos. Se puede verter directamente al fregadero, pero es aconsejable, que se vacíe en la garrafa de residuos que hay en la sala de IHQ.





- **Waste Marrón:** este residuo hay que verterlo en una garrafa de 20 litros para residuos especiales.



NOTA: El Bond III avisará cuando sea necesario rellenar o vaciar alguna garrafa (aparece un icono azul con una “i” en su interior), no obstante, se deben cambiar cuando se vean llenos o vacíos. Sin embargo, es aconsejable que el TEAP esté pendiente del nivel de llenado que presentan dichas botellas y las vacíe cuando sea necesario sin tener que esperar a que la máquina te lo indique, ya que a veces, aunque dichas botellas no estén demasiado llenas, el Bond III puede dar error a la hora de la tinción.

➤ **Fungibles**

- **Estaciones de mezcla:** la máquina NO avisa cuando están sucias. Por lo que el TEAP deberá revisarlas cada cierto tiempo, y cuando estén sucias cambiarlas por otras nuevas. Normalmente se suelen cambiar cada mes.





PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

- **Covertiles:** son reutilizables. Se cambian cuando se estropean o ya tienen demasiados usos. Hay que empezar a revisarlos cuando tengan un mes de antigüedad.

Después de utilizarlos, se colocan en un soporte para su lavado que hay que hacer en los siguientes pasos:

- Agua con lejía: deberán estar sumergidos mínimo 24h después de su uso para eliminar toda la diamina que la máquina de IHQ ha ido soltando en cada uno de ellos durante el proceso de tinción.
- Agua destilada: le damos unas cuantas pasadas en este baño para eliminar los restos de lejía.
- Alcohol de 70º los dejamos unos minutos (5-10 min).
- Por último, los dejamos secar al aire libre hasta que estén completamente secos, para que puedan ser utilizados nuevamente.



FUNCIONAMIENTO DEL BOND III

- Una vez que tenemos los cristales desparafinados en la estufa, los introducimos en la bandeja del Bond III, donde admiten sólo una



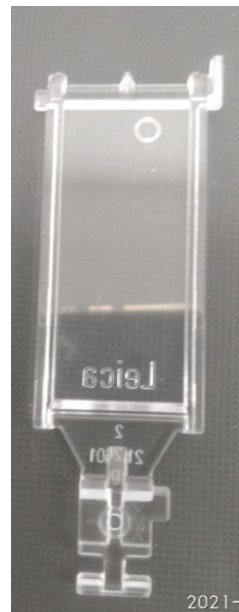
PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

posición. El bond consta de tres bandejas con diez huecos cada una, por lo que se podrán meter 30 cristales en cada Bond III.

- A continuación, colocamos un covertile encima de cada uno de los cristales en la posición correcta, es decir, cuando la palabra “Leica” sea legible correctamente.



CORRECTO



INCORRECTO

NOTA: Es muy importante que el **covertile esté colocado correctamente**. De lo contrario, la tinción no se realizará.

- Introducimos las bandejas en la máquina y pulsamos el botón situado en la parte inferior. Una vez pulsado dicho botón, la bandeja con los portaobjetos bajará y esperaremos a que el lector lea cada uno.



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA



- Mientras tanto localizamos los anticuerpos y demás reactivos que nos harán falta. Los reactivos que necesitaremos son los siguientes:
 - Bond polymer detection kit ó Bond polymer red detection kit.
 - Un contenedor con enzima 1 que habremos diluido previamente.
 - Los anticuerpos necesarios para cada cristal.



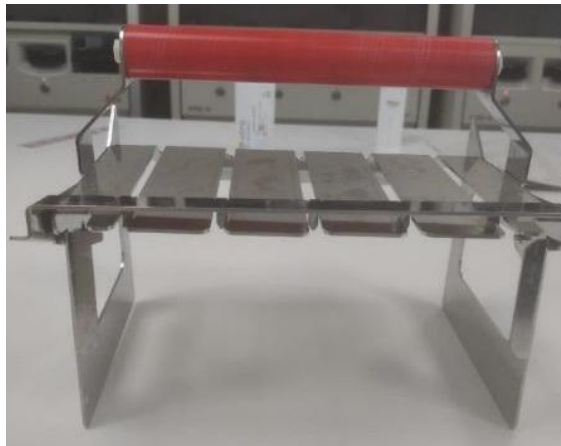
- Una vez que la máquina haya leído todos los cristales, nos fijamos en la pantalla del bond III, donde está el croquis de la máquina, y esperaremos para ver si hay algún fallo (cantidad de anticuerpo insuficiente, reetiquetado de pegatinas...etc.) o está todo correctamente.



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

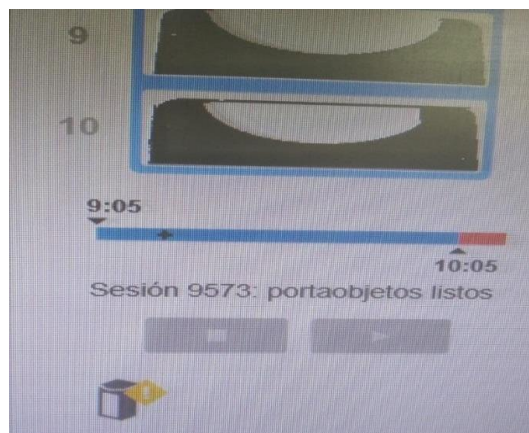


- Si la máquina indica que todo está correctamente, se inicia sesión dándole al “play”. De lo contrario, corregiremos dicho error y a continuación iniciamos sesión.
- Una vez que la sesión haya finalizado, sacaremos los cristales y los colocaremos en una cestilla para su posterior deshidratación y montaje.
- Cuando quitemos los coverslips, los colocaremos en el soporte para su lavado tal y como se ha explicado en el apartado anterior.



Posibles errores en bond III

- Falta de algún reactivo: si máquina necesita o no de algún reactivo que no está presente, aparecerá debajo de la bandeja correspondiente un icono de un contenedor con forma de “rombo” de color amarillo como aparece en la siguiente imagen.



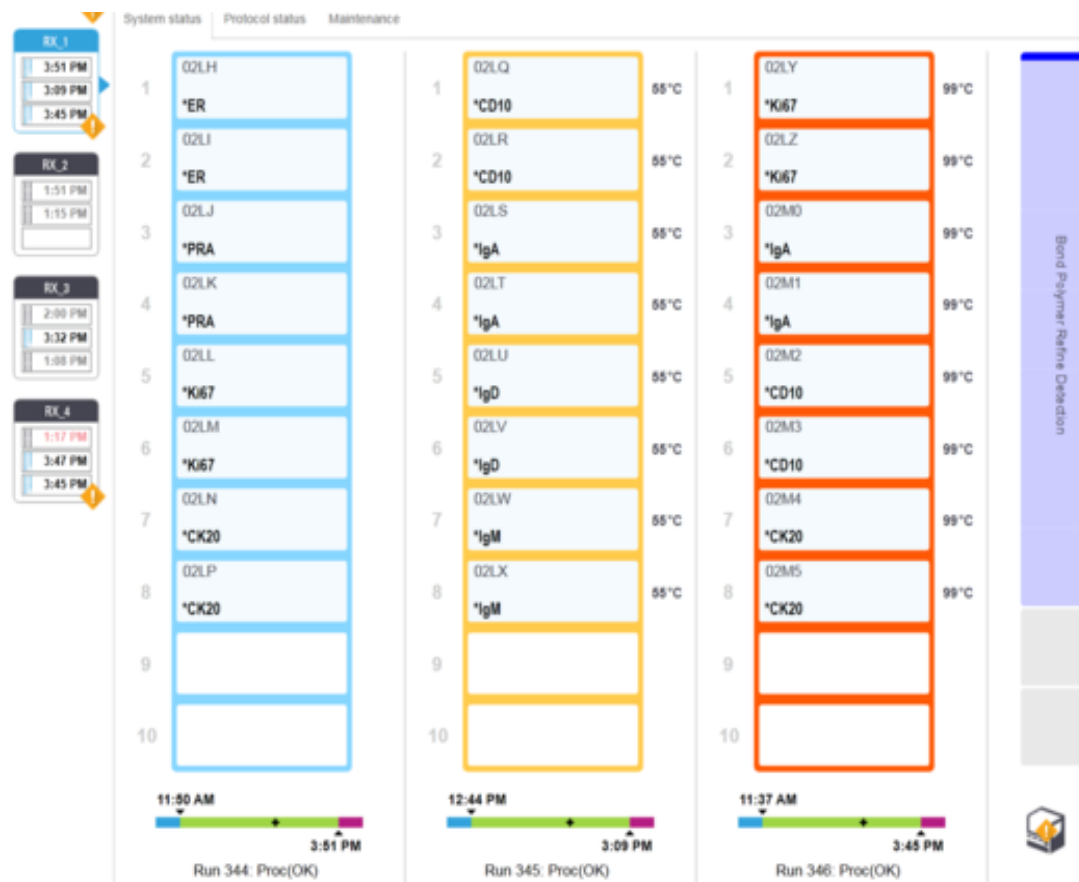
Para resolver este error, se introduce en la máquina el reactivo que falta y desaparecerá el icono.

- La bandeja lleva demasiado tiempo bajada: cuando la bandeja de cristales lleva demasiado tiempo bajada sin haber metido los reactivos nos aparece un rombo de color amarillo parpadeando debajo de la bandeja correspondiente. Este error se soluciona volviendo a subir la bandeja, y a continuación, volviéndola a bajar.
- La máquina pide el lavado o cualquier revisión: en el icono de la



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

máquina aparece un rombo amarillo.



6. USO Y CUIDADO DE LOS ANTICUERPOS. CRITERIOS GENERALES

En el laboratorio de Anatomía Patológica, uno de los requisitos más importantes para que las técnicas de inmunohistoquímica se realicen adecuadamente, presenten una buena tinción y no sean de dificultad para su diagnóstico es el **estado y almacenamiento de los anticuerpos**. Para ello, el técnico de anatomía patológica encargado de esta parte del laboratorio, deberá tener siempre en cuenta las siguientes directrices:



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

- Evite la contaminación de reactivos utilizando siempre puntas de pipeta limpias a la hora de hacer alguna dilución.
- Evite la exposición prolongada a altas temperaturas o excesiva exposición a la luz, mediante el pronto retorno de los reactivos a las condiciones adecuadas de almacenaje.
- Controle y observe la temperatura en la que se almacenan los anticuerpos con el fin de mantener temperaturas precisas y consistentes. La temperatura ideal para los anticuerpos que se usarán en un periodo inferior a 6 meses es de **4°C**.
- Cuando se recibe un pedido de reactivos de inmunohistoquímica, deberemos recepcionarlos y almacenarlos de forma inmediata según las especificaciones del fabricante.
- Almacene cantidades grandes de reactivos en equipos con alarma de temperatura y sistemas de respaldo de energía.
- Almacene los Kits de detección, anticuerpos *pre diluidos* (“listos para usar”) y las soluciones de anticuerpos monoclonales a 2–8°C ya que congelar y descongelar tiene un efecto deletéreo en su funcionamiento.
- Es recomendable para cada anticuerpo (por si fuera necesario realizar reclamos) llevar un registro en el que se especifique N° de lote del fabricante (el N° de lote es además un dato requerido por los controles de calidad externos), fecha de recibo, fecha de vencimiento (en especial si se trata de anticuerpos listos para usar) y número de factura.
- Los anticuerpos concentrados, en especial si tiene una baja frecuencia de uso, se podrán alicuotar y almacenarse a -20°C.
- Los anticuerpos *pre diluidos* tienen una vida media de almacenaje más corta. Son rentables si se usan cotidianamente.
- Los anticuerpos liofilizados deberán reconstituirse con agua destilada.



7. TIPOS DE ANTICUERPOS. PROTOCOLO DE CONSERVACIÓN Y ALMACENAJE

En nuestro laboratorio de Anatomía Patológica, disponemos de dos tipos de anticuerpos para realizar las técnicas de inmunohistoquímica:

- Anticuerpos en los que el reactivo ya viene listo para su utilización, sin necesidad de tener que diluirlo. Por ejemplo; CD5, CD138, CK19, Sinaptofisina, Cromogranina...etc.
- Anticuerpos concentrados, en los que dependiendo del tipo de anticuerpo que se quiera utilizar, la escala de dilución será una u otra. Por ejemplo; P57 (1:50), Tiroglobulina (1:200), Receptores de andrógenos (1:25)...etc.

A continuación os mostramos imágenes de los dos tipos de anticuerpos explicados respectivamente.





PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA



Tanto los anticuerpos concentrados como los no concentrados, presentan fecha de caducidad, por lo que es muy importante llevar un control de su uso y almacenamiento, para que en ningún caso, caduquen antes de que se acaben.

Para ello, en nuestro servicio disponemos de un listado de todos y cada uno de los anticuerpos de los que disponemos (tanto concentrados como no concentrados) en los que nos aparece; la **cantidad** que tenemos de cada reactivo y la **fecha de su caducidad**.

A continuación, os mostramos el **control de anticuerpos concentrados** con el que cuenta nuestro servicio, mediante un listado en el que destacamos tanto la cantidad, como la fecha de caducidad del reactivo:



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

ANTICUERPOS CONCENTRADOS (LEICA)		
ANTICUERPO	FECHA DE CADUCIDAD	CANTIDAD
ACETILCOLINESTERASA	pendiente de recibir pedido	1
AMILOIDE BETA	12/05/24	1
ANHIDRASA CARBÓNICA (CAIX)	30/04/24	1
ATRX	pendiente de recibir pedido	1
CD44	28/09/23	1
CD99	31/03/24	1
CD123	31/05/25	2
H. PYLORI	31/12/24	1
HHV8	30/04/23	1
IgA	30/05/25	1
MCK (AE1-AE3)	30/04/23	1
MYO D1	30/04/23	1
NEUN	pendiente de recibir pedido	1
NEUROFILAMENTOS	30/11/23	1
P57	31/03/24	1
RCC	pendiente de recibir pedido	1
R. ANDRÓGENOS	31/12/22	1
THY	31/01/23	2



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

ANTICUERPOS CONCENTRADOS READY TO USE (VITRO)		
ANTICUERPOS	FECHA DE CADUCIDAD	CANTIDAD
ACTH	31/03/23 Y 31/08/2023	4
ALFA 1 ANTITRIPSINA	31/05/23 Y 31/08/23	2
AMILOIDE A	31/08/23 Y 31/10/23	2
AMILOIDE P	31/08/23 , 30/09/23 Y 31/10/23	3
BEREP4	31/08/23	1
CALDESMON	30/09/23 Y 31/12/23	2
CDK4	31/08/23 Y 31/10/23	3
CMV (BIOCARE)	31/03/24	1
C-MYC	31/01/23, 31/08/23 Y 30/09/23	3
CK5/6	31/07/24	3
COLÁGENO IV	31/10/23	2
COX 2	31/01/23	2
D240	30/09/23 Y 31/08/24	2
FLI 1	31/10/23	2
GATA 3	31/12/23 Y 30/09/24	3
GLIPICAN 3	31/08/23 Y 31/10/23	2
GLUCAGÓN	31/01/23	2
GLUT 1	30/11/23	EN USO
GLICOFORINA A	30/11/23	2
HERPES 1	31/01/23 Y 30/11/23	2
IDH1	30/09/23	2



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

INI 1	31/07/23 Y 30/09/23	2
IgG4	31/10/23	2
LACTÓGENO PLACENTARIO (HPL)	31/12/23	1
MDM2	31/07/24 Y 31/08/24	2
MIELOPEROXIDASA	31/10/23 Y 31/12/23	4
OCH1E5 (HEPAR)	31/05/23, 31/10/23 Y 30/11/23	3
PAX 2	30/11/23 Y 31/10/23	2
PAX8	30/09/23 Y 31/12/23	2
PROLACTINA	30/06/23	EN USO
PTEN	31/05/23	1
SOX 2	31/08/23 Y 31/12/23	2
SOX 10	31/12/23 Y 31/08/24	7
SV40	31/10/23	2
THY	31/05/23 Y 31/10/23	2
TIA 1	30/09/23	1
TREPONEMA	31/05/23 Y 30/11/23	2
TSH	30/09/23 Y 30/11/23	3

En cuanto al **control de anticuerpos no concentrados**, disponemos de un listado de 92 páginas, el cual, lo podemos encontrar en el ordenador de inmunohistoquímica del que disponemos en nuestro servicio. Este listado, presenta el mismo formato que los anticuerpos concentrados (Anticuerpo- Fecha de Caducidad-Cantidad). Cada uno de los anticuerpos que están abiertos y utilizamos diariamente, irán colocados en la cámara frigorífica



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

(la cual deberá tener una temperatura máxima de 4°C) en ``racks`` enumerados por orden alfabético desde la < A a la Z >.



Sin embargo, los anticuerpos no concentrados que aún no se han abierto, se almacenarán por orden alfabético colocando las fechas de caducidad más recientes en primer lugar y las más lejanas, al final de su estante.

Por ejemplo, si disponemos de 3 CK19 y sus fechas de caducidad son; 23/12/2022, 02/04/2023 y 03/01/2023, el orden de almacenaje de los anticuerpos en dicho estante será:

1. CK19 con fecha de caducidad 23/12/2022.
2. CK19 con fecha de caducidad 03/01/2023.
3. CK19 con fecha de caducidad 02/04/2023.

Además, cada anticuerpo irá rotulado en su parte superior (tapadera) con las siglas o iniciales de dicho anticuerpo, para que su búsqueda le resulte más fácil al técnico.



Además de dichos anticuerpos (concentrados y no concentrados), para la realización de las técnicas de inmunohistoquímica, es necesario incorporar siempre un “**Bond polímero detection**”. Este kit, puede resumirse como el kit de rutina esencial, con el que siempre se tiene que contar para poder hacer la IHQ junto con los demás anticuerpos y al que va agregado un contenedor de enzima 1 (que previamente habremos diluido).



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA



Estos kits, también serán almacenados en la cámara frigorífica con el mismo protocolo descrito anteriormente con los anticuerpos



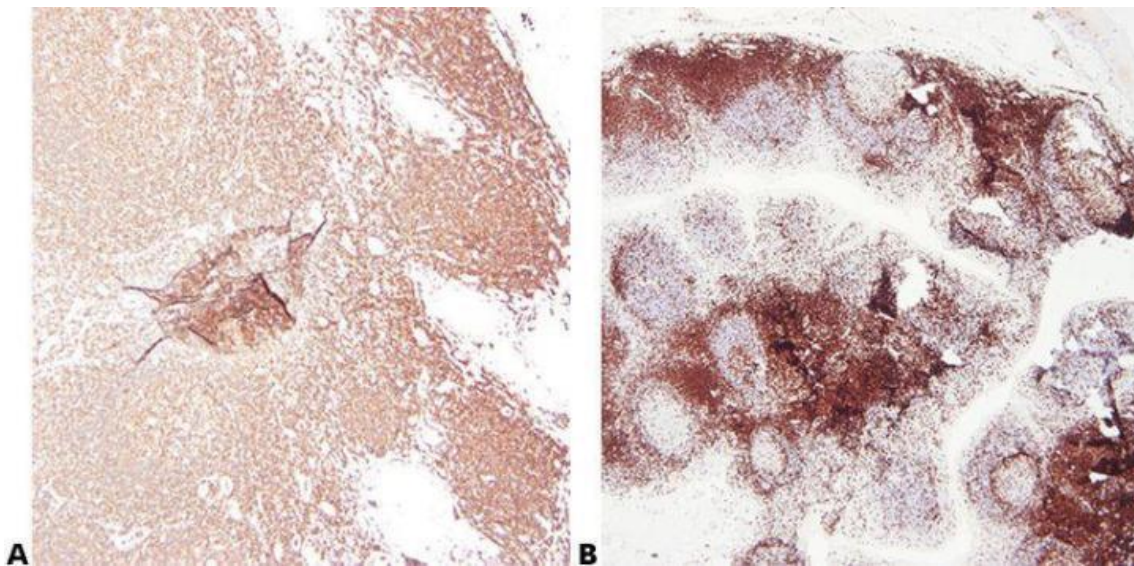


8. CONSEJOS A SEGUIR PARA LA REALIZACIÓN DE UNA MAYOR CALIDAD EN LA TÉCNICA INMUNOHISTOQUÍMICA

Desde el paciente hasta el patólogo, la preparación de muestras de tejidos para su examen histológico requiere cuidado, habilidad y un procedimiento delicado. Esta guía proporciona asesoramiento práctico sobre las mejores técnicas, así como formas sencillas de evitar errores comunes. Por ello, algunos consejos para obtener una mejor IHQ son los siguientes:

1) Usar secciones de alta calidad

Tenga especial cuidado de utilizar secciones finas y planas que se hayan secado por completo sobre la preparación. Las secciones irregulares y mal adheridas se tiñen de forma irregular con tinción de fondo variable.



2) Garantizar una fijación óptima

La buena calidad de la fijación con condiciones de fijación conocidas y constantes (tipo de fijador, pH, temperatura, tiempo) produce los mejores resultados. Se deben comprobar las muestras antes del procesamiento para determinar si es necesaria una fijación adicional. Las condiciones de fijación inconstantes, que producen tejidos infra fijados o sobre fijados, producen resultados variables y dificultan la resolución de problemas.



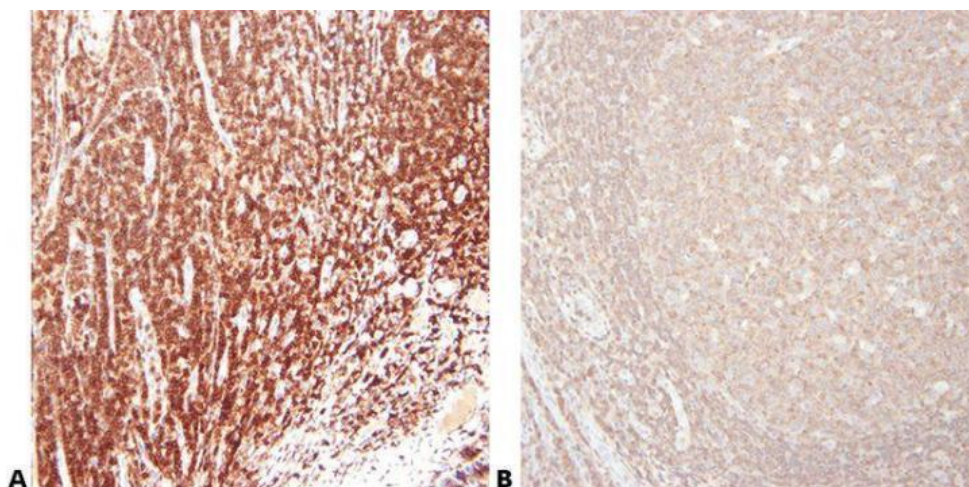
3) Evitar problemas de adherencia de la sección

Evite el uso de adhesivos de sección a base de proteínas en el baño de flotación especialmente en preparaciones cargadas. Los adhesivos a base de proteínas pueden bloquear la superficie de la preparación cargada provocando una adherencia incoherente y una tinción irregular.



4) Evitar gradientes de concentración

Los gradientes de concentración se evitan mediante la aplicación cuidadosa de los reactivos.

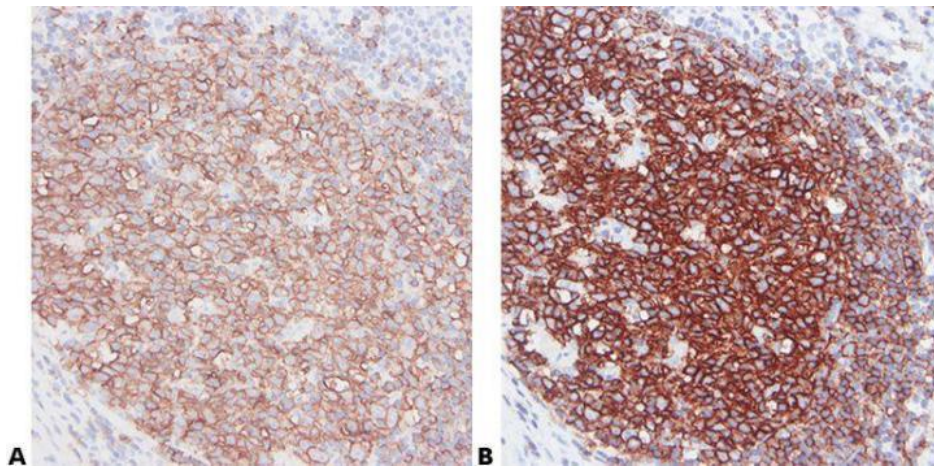




5) Elegir el anticuerpo con cuidado

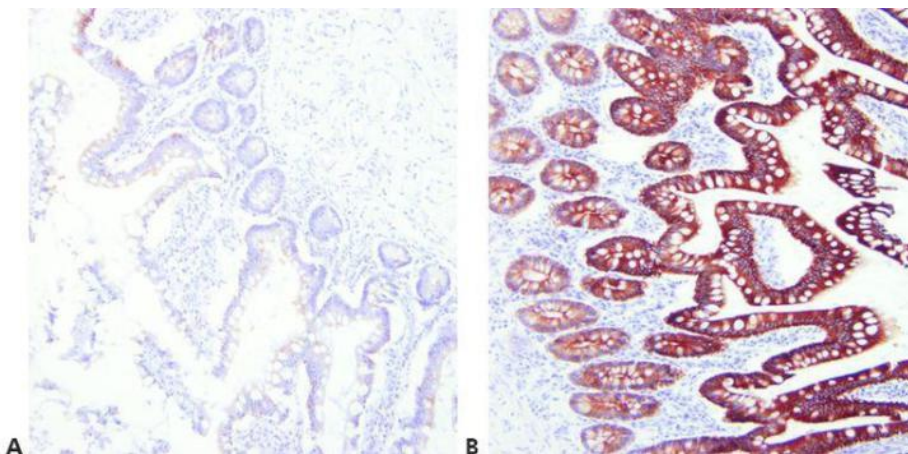
Elija su anticuerpo primario con cuidado en relación con su sensibilidad y especificidad. Tenga en cuenta que los anticuerpos vendidos por diferentes proveedores suelen proceder de la misma fuente y se reenvasan/etiquetan para su venta.

Es importante utilizar el nombre del clon al evaluar un anticuerpo.



6) Leer las hojas de especificaciones

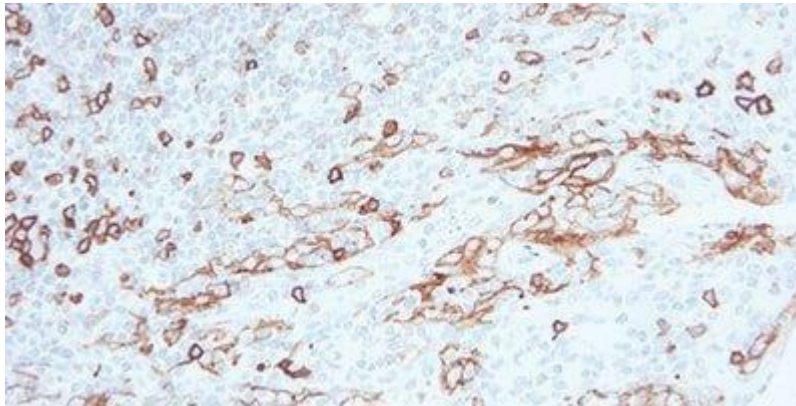
Compruebe siempre la hoja de especificaciones para determinar la idoneidad de su método para un anticuerpo concreto. Las hojas de especificaciones deben actualizarse cuando se compra un nuevo lote de anticuerpos.





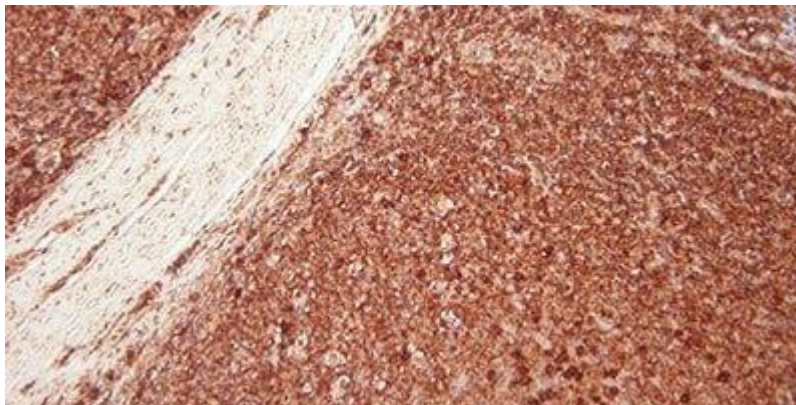
8) Considerar la reactividad cruzada de anticuerpos

Conozca cualquier posible problema con la reactividad cruzada de anticuerpos. No se intenta explicar la tinción positiva inesperada.



9) Evitar la tinción de fondo

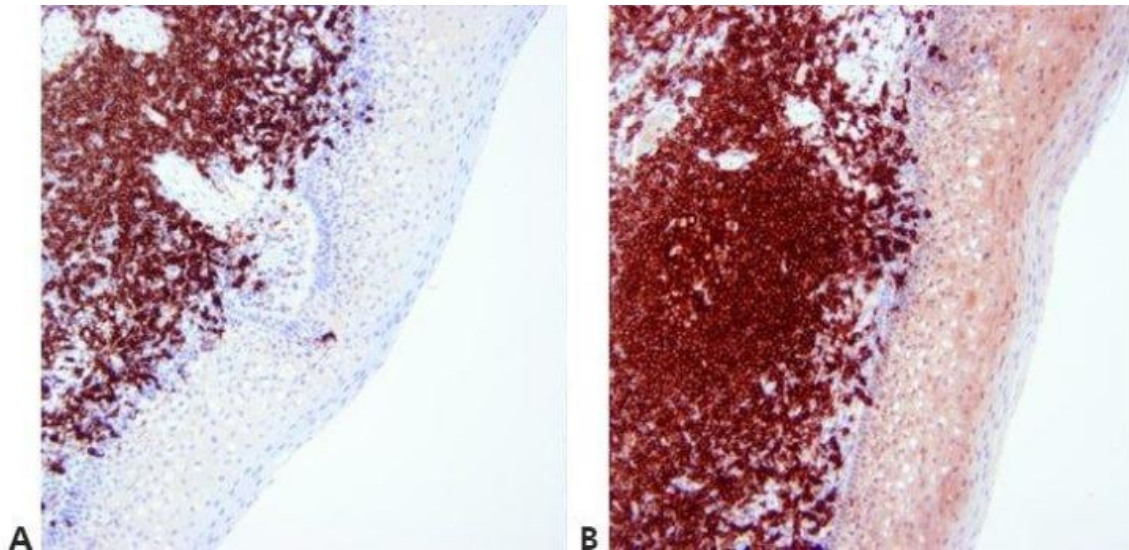
Siempre se utiliza el bloqueo de proteína adecuado. La tinción de fondo generalizada se ve a veces debido a un bloqueo de proteína ineficaz.



10) Estandarizar los pasos de lavado

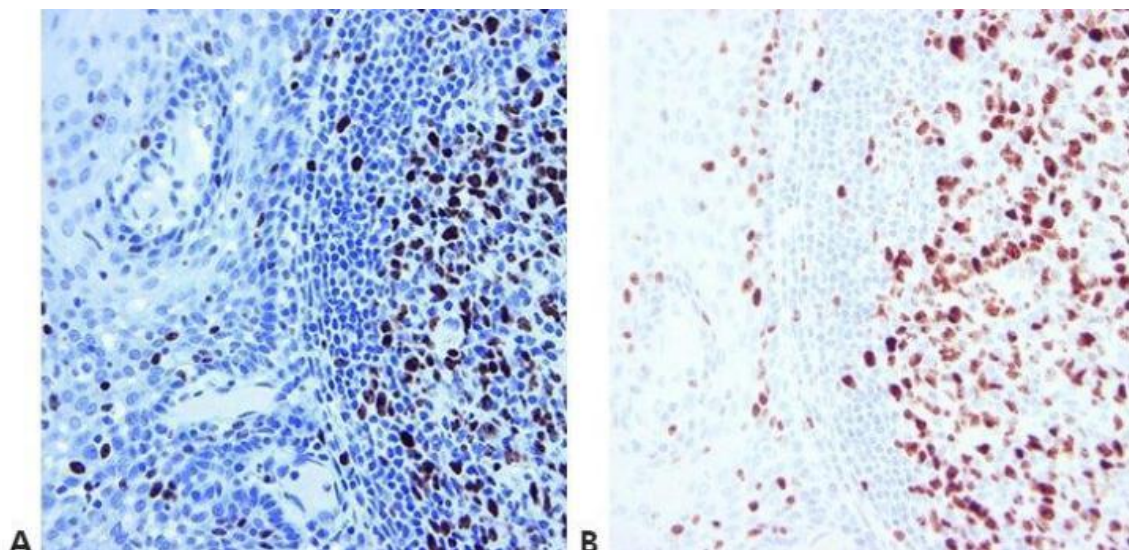
Utilice pasos de lavado estandarizados. Esto garantizará la coherencia de los resultados. Los resultados son muy variables dentro de los ciclos con el mismo anticuerpo y entre ciclos en días diferentes.

Esto puede deberse al uso de diferentes técnicas de lavado por parte de diferentes operadores.



11) Optimizar la contratinción

El nivel de contratinción nuclear se regula y estandariza minuciosamente para no oscurecer la tinción positiva. La contratinción debe proporcionar el mejor contraste posible entre el cromógeno y los elementos de tejido de fondo. Se elige una contratinción adecuada para el cromógeno utilizado. La contratinción nuclear a veces es muy fuerte. Esto puede oscurecer la tinción específica débil.



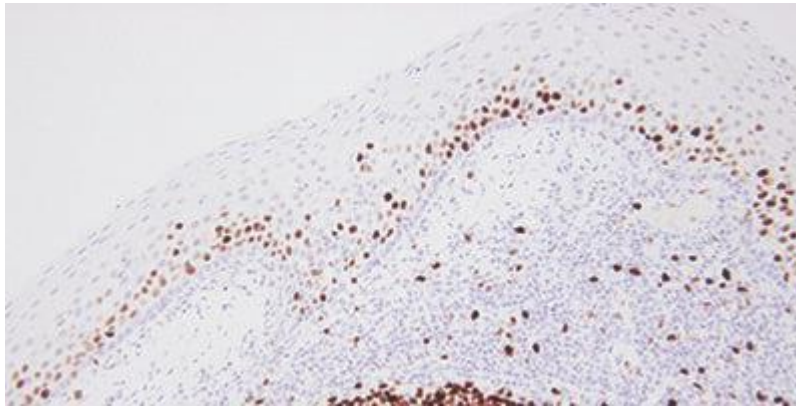
12) Usar controles adecuados

Utilice siempre controles positivos y negativos adecuados que se examinen minuciosamente para validar los resultados.



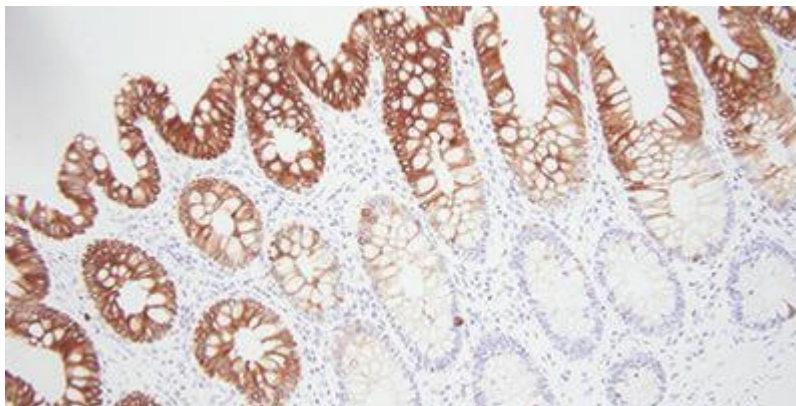
PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

Los controles internos positivos y negativos también son importantes y proporcionan un medio excelente para garantizar la calidad en IHC.



13) Evaluar los resultados con atención

Sepa qué buscar y dónde mirar al evaluar sus secciones de prueba y controles después de la tinción. Si se observa tinción en las secciones de prueba, se supone que las tinciones son satisfactorias.



Intestino teñido para AE1/AE3. Se ha producido una tinción débil inesperada del epitelio de la cripta. En la investigación, se descubrió que se había utilizado erróneamente CK20 como anticuerpo primario.

9. CÓDIGO ÉTICO Y NORMATIVA SOBRE EL LABORATORIO DE INMUNOHISTOQUÍMICA



Todo el personal de Inmunohistoquímica se rige por el siguiente código ético:

El laboratorio de Inmunohistoquímica tiene el fin de garantizar la Medicina de Precisión en Anatomía Patológica, participando en el desarrollo y la implementación de marcadores con valor predictivo, asegurando al paciente calidad, equidad, accesibilidad e indicación clínica en su diagnóstico y respuesta a terapias dirigidas. Además proporciona acceso a distintos biomarcadores con valores diagnósticos y pronósticos.

➤ **PRINCIPIOS GENERALES:**

- ✓ Todo el personal perteneciente al Laboratorio de Inmunohistoquímica ha de tener la voluntad de mantener una conducta íntegra como exigencia de la pertenencia al Laboratorio.
- ✓ Todo ejercicio realizado en el Laboratorio de Inmunohistoquímica es un servicio que responde íntegramente a los intereses del paciente.
- ✓ El presente Código Ético expresa la voluntad de todo el personal del Laboratorio y de Inmunohistoquímica e informa del contenido de los reglamentos que rigen al Laboratorio.

➤ **ÁMBITO DE APLICACIÓN:**

El presente código será de aplicación a todo el personal de Inmunohistoquímica, incluyendo:

- ✓ Jefe del Servicio de Anatomía Patológica.
- ✓ Supervisor/a del Departamento de Anatomía Patológica.
- ✓ Médicos adjuntos responsables del Laboratorio de Inmunohistoquímica.
- ✓ Director del laboratorio de Inmunohistoquímica. J
- ✓ Jefe de Sección del laboratorio de Inmunohistoquímica.
- ✓ Biólogos adjuntos del Laboratorio de Inmunohistoquímica.



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

- ✓ Técnicos Especialistas del Laboratorio de Inmunohistoquímica.

El respeto y la aceptación de las disposiciones del presente Código Ético son exigibles a todos los cargos del Laboratorio de Inmunohistoquímica.

➤ **PRINCIPIOS ÉTICOS:**

El comportamiento ético del personal de Inmunohistoquímica se centra en la honradez como virtud personal, en el compromiso, en el desempeño de sus funciones y en el servicio a los intereses generales del Laboratorio, siempre debiendo prevalecer a los intereses particulares, evitando así mermar la confianza en la competencia, la imparcialidad así como la integridad operacional del Laboratorio de Inmunohistoquímica.

- ✓ El laboratorio de Inmunohistoquímica se compromete a ejercer sus funciones de forma transparente, no estando sujetos a ningún acuerdo financiero indebido, ni a ninguna otra presión ni influencia que pueda mermar la eficacia del laboratorio.
- ✓ El laboratorio de Inmunohistoquímica se compromete a declarar de forma abierta y apropiada la existencia de conflictos potenciales en intereses contrapuestos siempre que los haya.
- ✓ El laboratorio de Inmunohistoquímica se rige según el Real Decreto 664/1997 del 12 de Mayo en el que se establece la garantía de protección a los trabajadores contra los riesgos relacionados a la exposición a riesgos biológicos durante el trabajo.
- ✓ El laboratorio de Inmunohistoquímica se rige según la Orden 2095/2006, del 30 de Noviembre, de la Consejería de Sanidad y Consumo, por la que se regulan los requisitos técnico-sanitarios, y de apertura y funcionamiento de Centros de Diagnóstico de Anatomía Patológica en la Comunidad de Madrid.
- ✓ El laboratorio de Inmunohistoquímica se ciñe al cumplimiento de todas las obligaciones descritas en la Cláusula de Confidencialidad del Personal.



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

- ✓ Auxiliar/Facultativo de la FJD, a la Política de Seguridad del Grupo IDC Salud, así como a la LOPD, Ley Orgánica 15/1999, de 13 de Diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.



B. Histoquímica

1. INTRODUCCIÓN

La histoquímica se fundamenta en la tinción de estructuras celulares o moléculas presentes en los tejidos, gracias a la afinidad de estos con colorantes específicos. La reacción de coloración de estas estructuras o moléculas en su formato original, es posteriormente visualizada en el microscopio óptico o microscopio electrónico.

Su objetivo es poner en manifiesto, a través de colorantes generales y específicos, las moléculas que se hallan en los tejidos a través del estudio de la distribución tisular, para de esta manera lograr detectar cualquier alteración o enfermedad que se encuentre en el tejido.

Las técnicas de histoquímica son metodologías de trabajo aplicadas por los histotecnólogos, que consisten en realizar diferentes tinciones a una porción de tejido que se somete a investigación. Estas tinciones se emplean para poder apreciar las diferentes estructuras que conforman al tejido estudiado y dependiendo de la estructura que se desea investigar es la tinción que se va aplicar. El nombre de histoquímica es aplicado porque la coloración implica una reacción química en la cual intervienen moléculas del tejido al que somete el proceso científico

Las reacciones químicas a las que es sometido el tejido **se basan en modificar el tejido para que se permita una mejor captación del color** dependiendo de lo que se desea analizar. De esta forma existen diferentes técnicas específicas para proteínas, carbohidratos, nucleótidos entre otros elementos celulares importantes para ofrecer un diagnóstico.

La técnica histoquímica más frecuentemente aplicada es la reacción de tipo **PAS (Periodic Acid Schiff)**. Esta técnica es útil para valorar la degeneración fibrinoide, ya que tiñe de rojo los depósitos de fibrina y permite visualizar elementos infecciosos como parásitos y hongos.

2. OBJETO



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

Manejo homogéneo por parte del TEAP sobre el funcionamiento de las máquinas en la sala de inmunohistoquímica e histoquímica.

3. ALCANCE

Todos los TEAP.

4. EQUIPAMIENTO NECESARIO

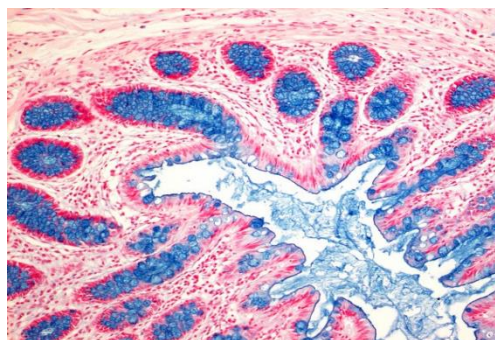
- Reactivos específicos de cada máquina
- EPI's
- Reactivos necesarios para poder realizar la tinción de histoquímica.

5. TÉCNICAS DE HISTOQUÍMICA

Para la realización de las técnicas de histoquímica, se necesitan diferentes reactivos y colorantes químicos, los cuales van a teñir las células tisulares con el fin de detectar cualquier alteración o enfermedad que se encuentre en el tejido. En nuestro laboratorio de anatomía patológica, contamos con determinadas técnicas histoquímicas, cuyos reactivos químicos describiremos a continuación:

➤ AZUL ALCIÁN

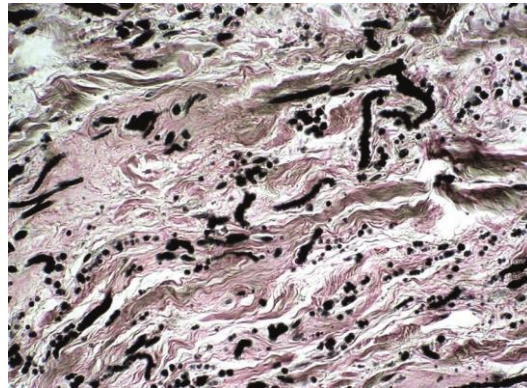
Es un método de tinción que se emplea para detectar polisacáridos en tejidos, tanto glucógeno como mucopolisacáridos. También es una buena tinción para membranas basales y cartílago. Las partes del tejido que se tiñen específicamente con este tinte, se vuelven de azul a verde azulado después de la tinción, y se denominan "alcianofílicas". Esta tinción puede combinarse con los métodos de tinción H-E, PAS y Van Gieson.





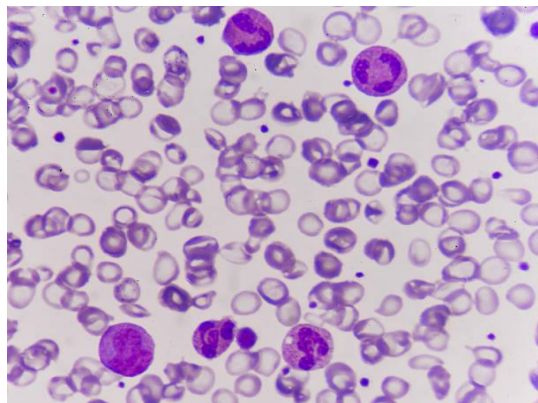
➤ **FIBRAS ELÁSTICAS**

Esta tinción se utiliza para evidenciar las fibras elásticas en un tejido biológico y en especial las enfermedades que lo afectan. Estas fibras elásticas se modifican a partir del método “Orceína” y son particularmente útiles para fibras delicadas y finas. Las fibras elásticas y los núcleos celulares se tiñen de negro, las fibras de colágeno de rojo y otros elementos del tejido incluyendo el citoplasma se tiñen de amarillo.



➤ **GIEMSA**

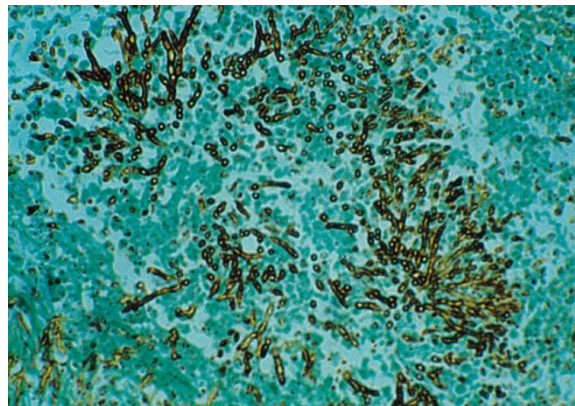
La tinción de Giemsa es un tipo de coloración de muestras clínicas (tejidos, sangre), basada en la mezcla de colorantes ácidos y básicos. Es muy útil para estudios citológicos, ya que permite la observación de estructuras específicas de las células. Además, permite la observación diferencial del núcleo y el citoplasma celular, puesto que el ADN queda teñido de un fuerte color azul. Esta tinción se emplea en organismos sin pared celular y eucariotas (con núcleo).





➤ **GROCOTT**

El Grocott es una tinción muy útil para la identificación de hongos y bacterias, mayormente en muestras de pacientes con infecciones respiratorias y neumonías. Ej: infección por Pneumocystis, en pacientes inmunodeprimidos con VIH...etc. Es una tinción esencial y debe utilizarse siempre que se sospeche de una patología de etiología fúngica.



➤ **MUCICARMÍN**

Permite la observación de membranas basales y algunas mucinas. Esta técnica se aplica para la clasificación como paso inicial en la identificación de las bacterias. Los patólogos suelen utilizar esta tinción para hacer el diagnóstico de adenocarcinoma.

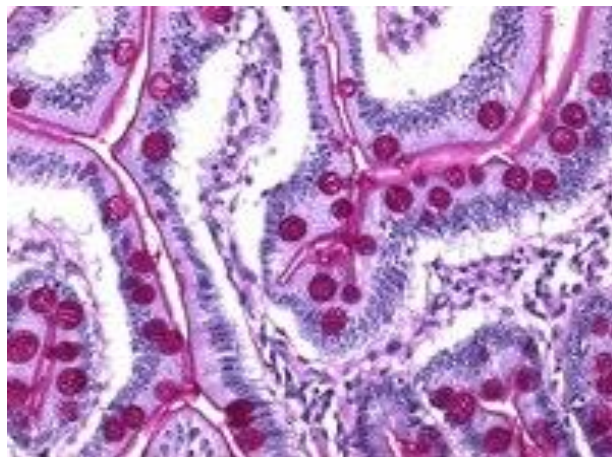




➤ **PAS (Periodic Acid Schiff)**

Esta técnica es la más común y la más utilizada. Valora la degeneración fibrinoide, ya que tiñe de rojo los depósitos de fibrina y permite visualizar elementos infecciosos como parásitos, hongos y otros microorganismos.

La tinción de PAS tiñe los componentes celulares que contienen hidratos de carbono, por ejemplo algunas membranas celulares, células caliciformes en la mucosa del intestino, fibras reticulares que están rodeados por hidratos de carbono, etc.



➤ *** PAS DIASTASA**

La tinción de Pas Diastasa, es una tinción de PAS que se usa en combinación con la **diastasa**, una enzima que descompone el glucógeno.

La tinción de PAS, suele manifestarse por un color magenta profundo. Sin embargo, cuando se combina con la diastasa, pasa a ser un color rosa claro reemplazando al magenta.

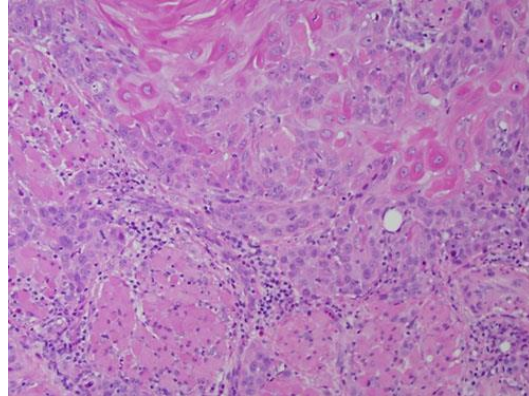
Las diferencias en las intensidades de las dos tinciones (PAS y PAS-D) se pueden atribuir a diferentes concentraciones de glucógeno en las muestras. Los



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

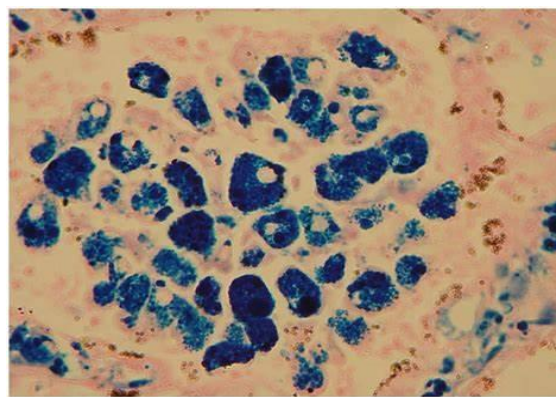
patólogos suelen utilizar esta tinción como estudio auxiliar para realizar un diagnóstico histológico en muestras de tejido.

Un ejemplo de PAS-D en uso es mostrar una metaplasia gástrica /duodenal en adenomas duodenales.



➤ **AZUL DE PERLS**

La tinción de perls pone de manifiesto la presencia de hemosiderina en el citoplasma de cualquier tipo de célula. Se emplea fundamentalmente sobre frotis de médula ósea para localizar estos depósitos de hierro en las células del Sistema Mononuclear Fagocítico y en eritroblastos.



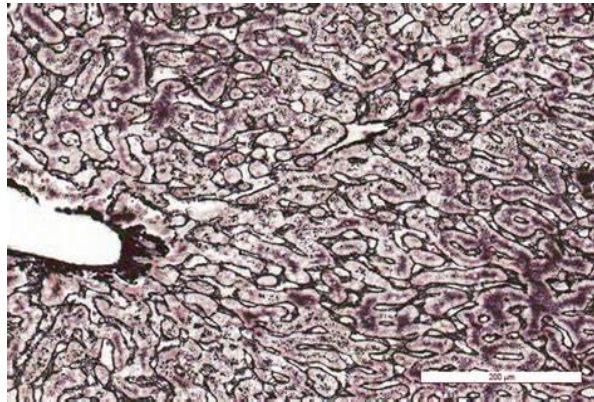
➤ **RETICULINA**

Es un método de impregnación con plata, que tiñe de negro las fibras de reticulina. Es muy útil para evidenciar lesiones de la pituitaria y malformaciones vasculares. Si el proceso de tinción se ha realizado correctamente, el fondo de



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

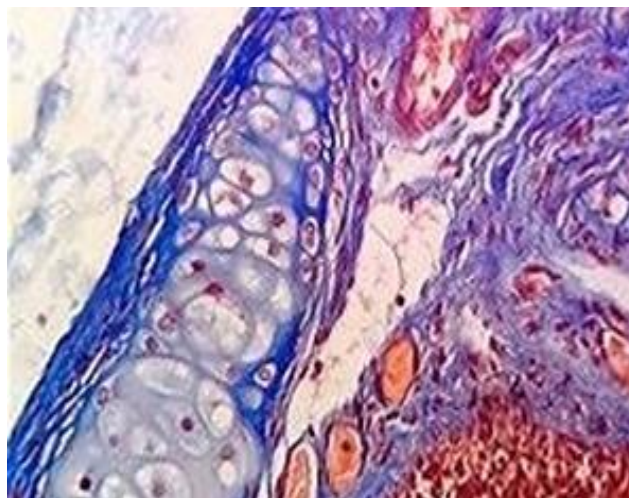
la preparación será casi incoloro y las fibras de reticulina estarán teñidas de negro-marronoso y el colágeno de amarillo.



➤ TRICRÓMICO DE MASSON

Esta tinción es una técnica de coloración especial que permite visualizar claramente las fibras de **colágeno** tipo I que forman fibras gruesas en los tejidos, como la piel, el corazón y los músculos. Si la tinción se ha realizado de forma correcta, el resultado al microscopio deberá ser:

- ✓ La fibra de colágeno se verá de color azul.
- ✓ El núcleo se tiñe de negro.
- ✓ Los músculos, el citoplasma y la queratina se tiñen de rojo.
- ✓ El fondo se tiñe de rojo.

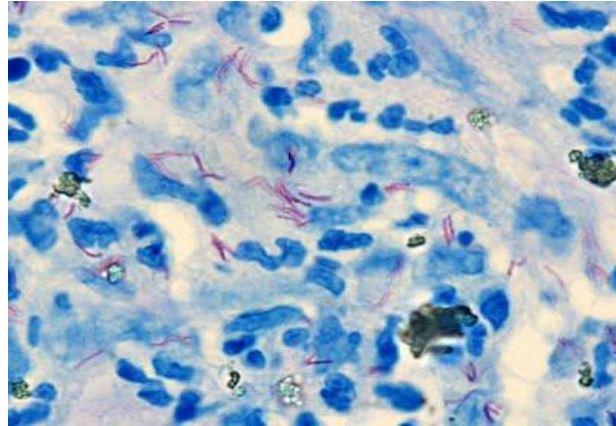


➤ ZIEHL NEELSEN



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

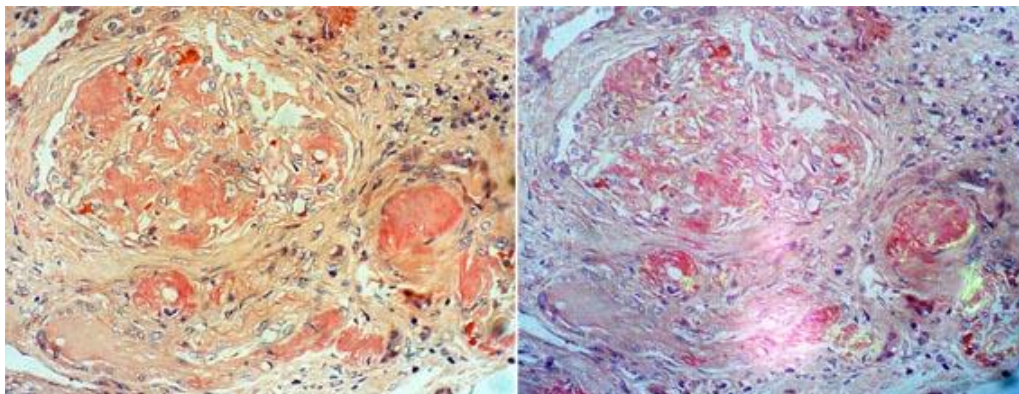
En la tinción de Ziehl-Neelsen se utiliza el compuesto fenólico carbol fucsina, un colorante básico. Se utiliza para la identificación de bacterias ácido-alcohol resistentes, como la tuberculosis.



➤ ROJO CONGO

El rojo Congo es un método de tinción que se utiliza para detectar **amiloide** en el tejido. El tejido amiloide se colorea en diversas tonalidades que van desde el rosa hasta el rojo intenso visto al microscopio óptico. En este tipo de tinción cuando el pH está comprendido entre 3.0 y 5.2 se vuelve rosa. Sin embargo, en presencia de una acidez superior este indicador se vuelve azul.

Además, esta técnica utiliza colorantes e indicadores de pH que permiten detectar ciertas patologías. Puede revelar focos de cáncer temprano en la mucosa gástrica, siendo utilizado como un marcador de acidez. La técnica se fundamenta en que el rojo Congo a pH ácido es de color negro.





6. CONTROL DE CALIDAD SOBRE LOS REACTIVOS QUÍMICOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO DE AP

Para que se lleve a cabo una buena realización de las técnicas de histoquímica, es fundamental que el estado y almacenamiento de los reactivos que se utilizan sea el adecuado. Para ello, en nuestro laboratorio contamos con un control de calidad mediante el cual, disponemos de un listado en el que consta tanto la cantidad como **la fecha de caducidad de dicho reactivo**.

<i>TÉCNICA</i>	<i>CANTIDAD</i>	<i>FECHA DE CADUCIDAD</i>
AZUL ALCIÁN	1	25/02/23
FIBRAS ELÁSTICAS	1	31/05/23
GIEMSA	1	31/01/23
GROCOTT	2	30/11/22- 28/02/22
MUCICARMIN	1	30/11/22
PAS	1	30/11/22
PAS DIASTASA	1	31/10/22
PERLS	1	31/12/22
RETICULINA	2	30/11/22- 30/04/23
TRICROMICO	2	31/10/22 -30/11/22
ZIEHL	2	31/07/23- 31/08/23
ROJO CONGO	1	31/12/22

7. ALMACENAMIENTO DE LOS REACTIVOS

Para mantener una buena calidad y buen estado de todos los reactivos mencionados anteriormente, el técnico de anatomía patológica deberá asegurarse de dejar siempre bien tapados cada reactivo una vez que ya se hayan utilizado, y además almacenarlos correctamente.



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA

Nuestro laboratorio cuenta con varios kits de tinción. La mayoría de ellos, se almacenan en un estante a temperatura ambiente. Sin embargo, de todos los kits que disponemos, hay 5 de ellos, en los que algunos reactivos de cada kits, se deberán almacenar en la cámara frigorífica, la cuál deberá tener una temperatura máxima de 4°C. Estos kits son:

- ✓ Reticulina.
- ✓ Tricrómico de Masson.
- ✓ Mucicarmín.
- ✓ PAS.
- ✓ PAS Diastasa.

Para que haya una distinción entre los que tienen que almacenarse en la cámara frigorífica y los que se almacenan a temperatura ambiente, cada reactivo cuenta con una línea de color roja o azul en su parte superior.

La línea de color azul indicará que dicho reactivo deberá ser almacenado en la cámara frigorífica. mientras que el reactivo que tenga una línea roja, indicará que deberá ser almacenado a temperatura ambiente.



En cuanto a los kits de tinción que se almacenan a temperatura ambiente, se colocarán en unos soportes de color negro y cada kits, ordenado consecutivamente. Además, en el borde de dicho soporte, se colocará una etiqueta en la que se indique el nombre de cada reactivo.



PUESTO DE INMUNOHISTOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA



Por último, a la hora de hacer cualquier técnica de histoquímica, es obligatorio y esencial, agregar un reactivo llamado **“Clearing Solution”**. Este reactivo es necesario ya que su función es actuar como “kit de limpieza” una vez que ha finalizado el procedimiento de tinción.





8. REGISTRO DE INCIDENCIAS SOBRE LA MÁQUINA DE HISTOQUÍMICA

Es muy importante tener un control y un registro sobre cualquier incidencia que se produzca en el laboratorio de histoquímica. Por ello, nuestro centro posee una hoja de registro en la que el técnico de anatomía anotará cualquier incidencia que se produzca en cuanto a la máquina de histoquímica.

En dicha hoja, se apuntará:

- ✓ La fecha en la que ha surgido dicha incidencia.
- ✓ Una breve descripción de lo ocurrido.
- ✓ El nombre y apellido del técnico de anatomía que ha detectado dicha incidencia.
- ✓ Poner de manifiesto que se le ha avisado al servicio técnico.
- ✓ Fecha de Resolución.
- ✓ Procedimiento paso a paso de cómo ha ocurrido dicha incidencia.

Una vez rellena dicha hoja, esperaremos a que el servicio técnico de la casa comercial a la que pertenece la máquina venga a nuestro hospital para que se solucione el problema lo antes posible.

Junta de Andalucía		Consejería de Salud y Familias Servicio Andaluz de Salud		Red andaluza de Libres de Humo		ENH EQUIPO DE NORMALIZACIÓN	
ANATOMÍA PATOLOGICA HOSPITAL UNIVERSITARIO TORRECALENAS		REGISTRO DE INCIDENCIAS INMUNO HISTOQUIMICA (cualquier incidente que cause una interrupción ó anomalía en el servicio)				ES 11 08 15	
						REVISION 0	
						SEGUIMIENTO	
FECHA	INCIDENCIA	DETECTADO POR	MEDIDA CORRECTORA	FECHA DE RESOLUCIÓN	IMPACTO		
3/3/22	LA ARTISAN NO DRENA BIEN UNO DE LOS PUESTOS DE TINCION AVISO AL SERVICIO TECNICO.	PERSONAL DE TÉCNICAS	AVISO AL SERVICIO TECNICO		LAVÉ CON BUFFER EL PORTADIENTOS EN CUESTION Y QUEDÓ BIEN. ESPERO NO SUCCEDA EN OTROS PORTALS		
14/9/22	LA ARTISAN NO DESPARAFINA LOS CRISTALES.	PERSONAL DE TÉCNICAS	AVISO AL SERVICIO TECNICO.	21/9/22	VIENE EL SERVICIO TECNICO, EL DIAGNOSTICO ES QUE SE HAN ROTADO LOS CARGAMIENTOS, SE CAMBIO EL SECTOR NETO. NO SE UTILIZO LA MAQUINA.		
5/9/22	LA ARTISAN NO DESPARAFINA LOS CRISTALES	PERSONAL DE TÉCNICAS	AVISO AL SERVICIO TECNICO.	21/9/22	!! NO SE UTILIZO LA MAQUINA.		
2/9/22	LA ARTISAN SOLO TRABAJA 2 CRISTALES, EL RESTO SIN DESPARAFINAR Y SIN TENER.	PERSONAL DE TÉCNICAS	AVISO AL SERVICIO TECNICO.	23/9/22	VIENE EL SERVICIO TECNICO, SE HACEN PRUEBAS Y FUNCIONA BIEN. AL DIA SIGUIENTE (24/9/22) SE PONE CON PORTADIENTOS.		
1/9/22	EL BORDADO S ATROFIA UN INCHILTE EN EL 3ER CARRIL PA EL DISEÑO NO FUNCIONA BIEN	PERSONAL DE TÉCNICAS	AVISO AL SERVICIO TECNICO		EL CARRIL ESTÁ SIN UTILIZAR PONIENDO 10 CRISTALES MENOS.		



**9. BIBLIOGRAFÍA// DOCUMENTOS CONSULTADOS//
ENLACES DE INTERÉS**

- <https://www.anatomiapatologica.pe>
- <https://www.breastcancer.org>
- <https://www.cancerquest.org>
- <https://www.cun.es>
- <https://www.leicabiosystems.com>
- <https://www.lifeder.com>
- <https://www.lrdiagnostico.com>



10. ANEXOS

AX01-POE_HUT_AP_0007 HOJA PETICION TECNICAS ESPECIALES

AX02-POE_HUT_AP_0007 PROCESAMIENTO CON OSNA

AX03-POE_HUT_AP_0007 PROCESAMIENTO CON IDYLLA



11. MODIFICACIONES

FECHA	MODIFICACIÓN INTRODUCIDA	REVISADO POR	APROBADO POR

OBSERVACIONES

--