

MINISTERIO DE SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE  
SALUD DEL NIÑO-SAN BORJA

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”  
“Año de la Lucha contra la Corrupción y la Impunidad”



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Lima, 11 FEB. 2019

VISTO:

El Expediente N°19-002723-001-INSN-SB, sobre aprobación de la “Guía de Procedimiento de Inmunohistoquímica”, elaborado por el Servicio de Anatomía Patológica de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico del Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja; y,

CONSIDERANDO:

Que, los artículos I y II del Título Preliminar de la Ley N° 26842, Ley General de Salud, establecen que la salud es condición indispensable del desarrollo humano y medio fundamental para alcanzar el bienestar individual y colectivo, por lo que la protección de la salud es de interés público. Por lo tanto es responsabilidad del Estado regularla, vigilarla y promoverla;

Que, el segundo párrafo del artículo 5° del Decreto Supremo N° 013-2006-SA, Reglamento de Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo, establece que los Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo deben contar, en cada área, unidad o servicio, con manuales de procedimientos, guías de práctica clínica referidos a la atención de los pacientes, personal, suministros, mantenimiento, seguridad, y otros que sean necesarios, según sea el caso;

Que, el inciso s) del artículo 37° del Decreto Supremo N° 013-2006-SA, Reglamento de Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo, establece que al Director Médico le corresponde disponer la elaboración del Reglamento interno, de las guías de práctica clínica y de los manuales de procedimientos dispuestos en el artículo 5° del presente Reglamento;

Que, el numeral II.4.2 del Manual de Operaciones del Instituto Nacional de Salud del Niño – San Borja, aprobado mediante Resolución Ministerial N° 512-2014/MINSA, y modificada por la Resolución Directoral N° 123-2017-INSN-SB, establece que la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento es la Unidad de línea responsable de apoyar el diagnóstico y



tratamiento de los problemas clínicos de los pacientes, a través de procedimientos, estudios y exámenes, según corresponda; así como intervenir en el desarrollo de la política y normas, el desarrollo de la investigación clínica y de docencia del Instituto. Depende jerárquicamente de la Dirección General;

Que, mediante el Anexo 3 de la Ficha de Descripción de Procedimiento: "Elaboración y Aprobación de las Guías de Práctica Clínica y/o Guía de Procedimiento", del Manual de Gestión de Procesos y Procedimientos del Proceso de Gestión de la Calidad, aprobado por Resolución Directoral N° 007/2019/INSN-SB/T se establece la estructura de la Guía de Procedimiento;

Que, mediante la Nota Informativa N° 018-2019-SAP-INSN-SB, la Médico Responsable del Servicio de Anatomía Patológica, remite al Jefe de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico, la "Guía de Procedimiento de Inmunohistoquímica"; a fin de que se continúe con el trámite correspondiente para su aprobación, mediante la emisión de la Resolución Directoral;

Que, mediante la Nota Informativa N° 125-2019-SUSD-INSN-SB, el Jefe de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico, remite al Director Ejecutivo de la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento, la "Guía de Procedimiento de Inmunohistoquímica", elaborado por el Servicio de Anatomía Patológica, para su correspondiente revisión y aprobación;

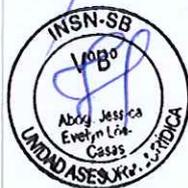
Que, mediante la Nota Informativa N° 0099-2019-UGC-INSN-SB, el Jefe de la Unidad de Gestión de la Calidad, solicita al Dirección General, la aprobación mediante la emisión de la Resolución Directoral, de la "Guía de Procedimiento de Inmunohistoquímica", la misma que cuenta con la opinión favorable de la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento, de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico, y de la Unidad de Gestión de la Calidad;

Que, mediante el Memorando N° 086-2019-DG/INSNSB, la Dirección General, solicita a la Jefe de la Unidad de Asesoría Jurídica, se realice las acciones que correspondan de acuerdo al marco normativo vigente, en relación a la "Guía de Procedimiento de Inmunohistoquímica", elaborado por Servicio de Anatomía Patológica de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico;

Que, mediante el Informe Legal N° 041-2019-UAJ-INSN-SB, la Jefa de Oficina de la Unidad de Asesoría Jurídica informa a la Dirección General, que la "Guía de Procedimiento de Inmunohistoquímica" del Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja, se encuentra enmarcada dentro de las normas de la materia, por lo que se recomienda su aprobación, mediante la emisión de la Resolución Directoral correspondiente;

Con el visto bueno del Director Adjunto, del Director Ejecutivo de la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento, del Jefe de Oficina de la Unidad de Gestión de la Calidad; y, de la Jefa de Oficina de la Unidad de Asesoría Jurídica;

Por estas consideraciones, y de conformidad con la Ley N° 26842, con el Decreto Supremo N° 013-2006-SA, con la Resolución Ministerial N° 302-2015/MINSA, con la Resolución Ministerial N° 512-2014/MINSA, y modificada por la Resolución Directoral N° 123-2017-INSN-



SB, con la Resolución Directoral N° 007-2019-INSN-SB y; en uso de las facultades otorgadas con la Resolución Ministerial N° 021-2019-MINSA;

**SE RESUELVE:**

**ARTÍCULO 1°.- APROBAR** la “Guía de Procedimiento de Inmunohistoquímica”, de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico del Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja, la misma que forma parte integrante de la presente Resolución.

**ARTÍCULO 2°.- ENCARGAR** a la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento, la implementación de la Guía de Procedimiento, aprobada con la presente Resolución.

**ARTÍCULO 3°.- ENCARGAR** a la Unidad de Gestión de la Calidad, la evaluación del cumplimiento de la citada Guía de Procedimiento.

**ARTÍCULO 4°.- DISPONER** que se realice la publicación de la presente Resolución en la Página Web de la Institución, conforme a las normas de Transparencia y Acceso a la Información Pública.

**REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y PUBLÍQUESE**

 Instituto Nacional de Salud del Niño  
San Borja  
  
Dr. A. RICARDO ZOPFI RUBIO  
Director General (e)  
CMP. 8780 RNE. 2550

ARZR/JELC/dpm

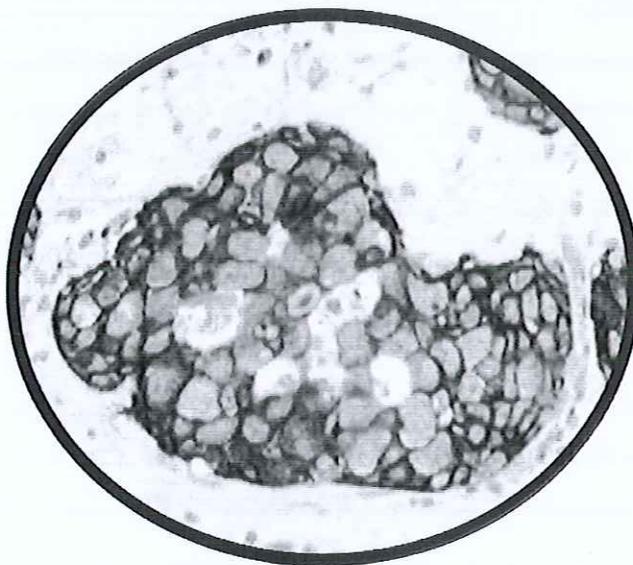
Distribución

- ( ) Dirección Adjunta
- ( ) Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento
- ( ) Unidad de Gestión de la Calidad
- ( ) Unidad de Asesoría Jurídica
- ( ) Unidad de Tecnologías de la Información
- ( ) Archivo



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA  
UNIDAD DE SOPORTE AL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO  
SUB UNIDAD DE SOPORTE AL DIAGNÓSTICO  
SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA



<p><b>Elaborado por:</b></p> <p>-Equipo Técnico del Servicio de Anatomía Patológica de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico.</p>	<p><b>Revisado por:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento</li> <li>• Subunidad de Soporte al Diagnóstico</li> <li>• Unidad de Gestión de la Calidad</li> </ul>	<p><b>Aprobado por:</b></p> <p>Dr. Antonio Ricardo Zopfi Rubio</p> <p>Director General Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja</p>
---	--	---





**GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA**

**GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA**

- I. Título..... 3
- II. Finalidad..... 3
- III. Objetivos..... 3
  - a. Objetivo General..... 3
  - b. Objetivo Específico..... 3
- IV. Ámbito de aplicación..... 3
- V. Nombre del Proceso o Procedimiento a Estandarizar y Código CPT ..... 3
- VI. Consideraciones Generales..... 3
  - a. Definiciones Operativas..... 3
    - 1. Definición del Procedimiento..... 3
    - 2. Aspectos epidemiológicos importantes..... 3
    - 3. Consentimiento informado ..... 4
  - b. Conceptos Básicos ..... 4
  - c. Requerimientos Básicos ..... 5
- VII. Consideraciones Específicas..... 6
  - a. Descripción detallada del Proceso o Procedimiento: ..... 6
  - b. Indicaciones ..... 10
  - c. Riesgos o Complicaciones Frecuentes: ..... 10
  - d. Riesgos o Complicaciones poco Frecuentes: ..... 10
  - e. Contraindicaciones ..... 10
- VIII. Recomendaciones..... 10
- IX. Autores, Fecha y Lugar ..... 11
- X. Anexos..... 12
- XI. Bibliografía ..... 17





## GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA

**I. TÍTULO**

GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA

**II. FINALIDAD**

Establecer los lineamientos correctos para un adecuado procesamiento de las muestras de Inmunohistoquímica garantizando un procesamiento de calidad para un diagnóstico definitivo.

**III. OBJETIVOS****a. Objetivo general:**

Asegurar la calidad de los procedimientos realizados en el Área de Inmunohistoquímica.

**b. Objetivos Específicos**

Estandarizar los procedimientos en la técnica de Inmunohistoquímica y uniformizar el proceso.

**IV. ÁMBITO DE APLICACIÓN**

La presente Guía de Procedimiento de Inmunohistoquímica tiene como ámbito de aplicación al área de Inmunohistoquímica del Servicio de Anatomía Patológica del INSNSB.

**V. NOMBRE Y CÓDIGO**

- INMUNOHISTOQUÍMICA (incluyendo Inmunoperoxidasa en tejidos), cada anticuerpo.  
Código CPT 88342

**VI. CONSIDERACIONES GENERALES****a. Definiciones operativas****1. Definición del procedimiento**

Técnica mediante la cual se detecta la presencia de un péptido o proteína en una célula o tejido, utilizando un anticuerpo (monoclonal ó policlonal, IgG ó IgM) específico contra él. La técnica está basada en la reacción antígeno-anticuerpo y por ello el anticuerpo primario que se utilice debe haber sido generado en una especie diferente a la que se está estudiando.

**2. Aspectos epidemiológicos importantes**

No aplica





## GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA

**3. Consentimiento informado**

No aplica

**b. Conceptos básicos****1. Antígeno (Ag):**

Es una sustancia que desencadena la formación de anticuerpos y puede causar una respuesta inmunitaria. La definición moderna abarca todas las sustancias que pueden ser reconocidas por el sistema inmune adaptativo, bien sean propias o ajenas. Cada antígeno está definido por su anticuerpo, los cuales interactúan por complementariedad espacial. La zona donde el antígeno se une al anticuerpo recibe el nombre de epítipo o determinante antigénico.

**2. Anticuerpo (Ac):**

Los anticuerpos (también conocidos como inmunoglobulinas) son glucoproteínas. Aunque la estructura general de todos los anticuerpos es muy semejante, una pequeña región del ápice de la proteína es extremadamente variable, lo cual permite la existencia de millones de anticuerpos, cada uno con un extremo ligeramente distinto. A esta parte de la proteína se la conoce como región hipervariable. Cada una de estas variantes se puede unir a una "diana" distinta, que es lo que se conoce como antígeno y la zona donde el anticuerpo se une al antígeno se le conoce como parátipo.

**3. Recuperación antigénica:**

Generalmente los tejidos se fijan en formalina y se embeben en parafina. Esto provoca la alteración de la estructura tridimensional de las proteínas. La fijación con formaldehído forma enlaces cruzados estables entre las proteínas, mientras que la parafina altera su forma. Mediante la técnica de recuperación antigénica se busca revertir este proceso, eliminando los enlaces cruzados, restaurando la conformación de los epítipes y eliminando los iones calcio con citrato. Es importante el buffer utilizado en la recuperación antigénica para obtener mejores resultados. Los equipos usados para este proceso en los laboratorios es el baño maría y la olla a presión, la temperatura alcanzada es de 96°C a presión completa.

**4. Bloqueo de la Peroxidasa endógena:**

Las actividades peroxidásicas y pseudoperoxidásicas (catalasa, citocromo-oxidasa, hemoglobina y mioglobina) están presentes en un número de células normales y neoplásicas. La fijación inactiva esta actividad en algunas células no obstante persiste en los eritrocitos, granulocitos e histiocitos o algunos otros. Debido a esto existe el riesgo de obtener falsos resultados positivos o marcación de "fondo", es necesario la aplicación de una mezcla de peróxido de hidrogeno al 3% para el bloqueo de la actividad de la peroxidasa endógena.

**5. Lavados:**

En cualquier procedimiento inmunohistoquímico es preciso eliminar residuos de peróxido y todo rastro de anticuerpo no unido al antígeno durante una incubación antes de pasar al siguiente paso. Esto se realiza lavando después de cada paso con la solución de lavado que consiste en un buffer PBS pH 7 o Tris Buffer Salino (TBS) pH 7.6

**6. Incubación del anticuerpo:**

Enero del 2019	Código: GP-004/INSN-SB/USDYT-SAP:V.01	Página 4 de 17
----------------	---------------------------------------	----------------



**GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA**

Reacción antígeno-anticuerpo. El anticuerpo es colocado cubriendo el corte de tejido adherido a la lámina para que se lleve a cabo la reacción antígeno-anticuerpo. Para prevenir la evaporación de los antiseros, las incubaciones se llevan a cabo en una atmósfera húmeda preferentemente en cámaras de incubación, de esta forma se ahorra considerable cantidad de anticuerpos.

**7. Tinción de fondo:**

Es uno de los principales problemas de la técnica Inmunohistoquímica. Es toda tinción que aparece donde no debería haberla, desde tinciones inespecíficas (debido a reacciones antígeno-anticuerpo con antígenos no deseados) hasta un marcaje general de todo el tejido. Las causas son diversas y deben tener en cuenta para intentar corregir los problemas de fondo cuando se detectan, por ejemplo, reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario y secundario.

**8. Detección de la reacción antígeno- anticuerpo:**

Para la detección de la reacción se utilizará un polímero marcado con HRP (peroxidasa) conjugado con anticuerpos secundarios. que se une al anticuerpo primario.

**9. Visualización de la reacción:**

Se utiliza la Diaminobencidina (DAB) + Buffer diluyente, preparación que se conoce como solución cromógena. La DAB es el sustrato de la enzima peroxidasa y al unirse a ésta genera una reacción, la cual es visualizada con un precipitado marrón oscuro.

**10. Contratinción con hematoxilina:**

Procedimiento por el cual los portaobjetos son sumergidos en hematoxilina. La duración depende de la maduración de la Hematoxilina usada. Se realiza para dar contraste a los tejidos.

**11. Aclaramiento:**

Es la etapa posterior a la deshidratación donde el tejido es sumergido en un solvente como el xilol o sustituto de este, el cual da transparencia al tejido.

**c. Requerimientos básicos****1. Equipos Biomédicos**

- Micrótopo
- Baño de flotación
- Estufa
- Baño María
- Microscopio
- Refrigeradora

**2. Materiales no fungibles**

- Coplins
- Cámara húmeda para incubación de anticuerpos
- Pizeta
- Micropipetas



**GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA**

- Plumón hidrofóbico
- Pinza

**3. Materiales Fungibles**

- Buffer de recuperación con EDTA
- Buffer de lavado
- Anticuerpo primario
- Polímero (HRP)
- Solución cromógeno
- Láminas cargadas
- Tips
- Lamillas
- Guantes de nitrilo

**VII. CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS****a. Descripción del Procedimiento****1. RECEPCIÓN DE SOLICITUD**

- 1.1 Recepcionar la solicitud de estudio para Inmunohistoquímica. (Anexo 2).
- 1.2 Verificar el código AP de la solicitud (Ej. 18PQ-150) y los marcadores solicitados. (Anexo 2).
- 1.3 Registrar en la bitácora del área de Inmunohistoquímica lo solicitado. (Anexo 3).

**2. CORTE HISTOLÓGICOS EN MICRÓTOMO**

- 2.1 Ubicar los bloques de parafina de la muestra problema y controles positivos. Enfriar los bloques en la plancha de enfriamiento -20°C.
- 2.2 Rotular las láminas cargadas con los marcadores de estudio solicitado.
- 2.3 Realizar los cortes de la muestra problema en el micrótomo con un grosor de 2 micras y ganglios a 1.5 micras.
- 2.4 Recoger el corte de tejido con una pinza y colocar en un recipiente con agua fría.



**GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA**

- 2.5 Recoger con una lámina cargada el corte de tejido y colocar en baño de flotación. Temperatura del agua: 50°C +/- 2 °C.
- 2.6 Recoger nuevamente el corte de tejido con una inclinación de 45°, evitar formar burbujas. Centrar el tejido en la lámina y dejar secar por 10 a 15 minutos.
- 2.7 Repetir los pasos desde el punto N°3 al N°6 para los controles positivos y colocar los cortes en la parte inferior de la muestra problema.
- 2.8 Registrar en SISGALENPLUS los casos con los marcadores solicitados.

**3. DESPARAFINADO E HIDRATADO DE LÁMINAS.**

- 3.1 Colocar las láminas en la estufa (70°C).
- 3.2 Dejar por un mínimo de 1 hora para que se adhiera el tejido a la lámina.
- 3.3 Tratar los cortes en xilol 1, durante 5 minutos.
- 3.4 Regresar a la estufa por 5 minutos.
- 3.5 Tratar los cortes en xilol 2, durante 5 minutos.
- 3.6 Tratar los cortes en alcohol absoluto 1, durante 1 minuto.
- 3.7 Tratar los cortes en alcohol absoluto 2, durante 5 minutos.
- 3.8 Tratar los cortes en alcohol corriente 96°, durante 5 minutos.
- 3.9 Lavar en agua corriente 1 minuto.

**4. PROCESAMIENTO PARA PRUEBA DE INMUNOHISTOQUÍMICA MANUAL**

- 4.1 Prender el Baño María. Calentar a una temperatura de 96°C.
- 4.2 Retirar de la refrigeradora el buffer de recuperación a usar y dejar atemperar por 5 minutos.
- 4.3 Colocar el buffer de recuperación en coplins e introducirlos por 10 minutos al Baño María a 96°C.
- 4.4 Colocar las láminas en los coplins precalentados y colocarlos en el Baño María (96°C) por un tiempo de 35 minutos.
- 4.5 Cumplido el tiempo, retirar la tapa del Baño María con mucho cuidado, retirar los coplins y destaparlos.
- 4.6 Dejar reposar a temperatura ambiente por 5 a 10 minutos aproximadamente.





**GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA**

- 4.7 Retirar una a una las láminas y lavar con buffer de lavado para retirar los residuos del buffer de recuperación.
- 4.8 Secar los bordes de cada una de las láminas y marcar con plumón hidrofóbico alrededor de la muestra y del control.
- 4.9 Agregar inmediatamente el peróxido de hidrogeno 3% por 10 minutos (especial cuidado en no dejar secar el tejido).
- 4.10 Lavar con buffer de lavado dejando reposar por 3 minutos, repetir 2 veces.
- 4.11 Agregar el anticuerpo primario prediluido o concentrado (dilución según anticuerpo a usar) entre 30 a 50 minutos, según marca comercial y anticuerpo a utilizar.
- 4.12 Repetir paso N° 10 (lavados con buffer de lavado).
- 4.13 Agregar el polímero (HRP) por 30 minutos.
- 4.14 Repetir paso N° 10 (lavados con buffer de lavado).
- 4.15 Agregar la solución cromógena (DAB 1 gota + Buffer diluyente DAB 1000µl) de 1 a 5 minutos.
- 4.16 Observar al microscopio la reacción que se va originando, pues algunos anticuerpos tienden a hacer tinción de fondo.
- 4.17 Lavar con agua corriente y proceder a contrastar.

**5. PROCESAMIENTO PARA PRUEBA DE INMUNOHISTOQUÍMICA AUTOMATIZADA**

- 5.1 Prender el equipo de recuperación PT-LINK. Retirar el recipiente interno del equipo y adicionar 1.5 litros de solución de recuperación antigénica.
- 5.2 Cerrar el equipo para que empiece a precalentar hasta 65°C. Esperar hasta que suene la alarma.
- 5.3 Ingresar los marcadores a procesar en el sistema del equipo, imprimir etiquetas y etiquetar las láminas previamente desparafinadas.
- 5.4 Colocar las láminas en los soportes y colocarlas al equipo PT-LINK. Dar la opción de INICIAR y esperar que transcurra el tiempo de recuperación (95°C) y enfriamiento (65°C), en total 40 minutos aproximadamente. Esperar hasta que suene la alarma.
- 5.5 Abrir el equipo, retirar los soportes y rápidamente colocarlos en un recipiente con buffer de lavado para continuar el enfriamiento por un tiempo de 5 a 10 minutos. Tener especial consideración en no dejar secar la muestra.
- 5.6 Imprimir el mapa de reactivos, retirar los reactivos de la refrigeradora y ordenarlos en la canastilla según el mapa.





### GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA

- 5.7 Colocar la canastilla en el equipo y retirar en orden las tapas de los frascos de reactivos.
- 5.8 Verificar que los reactivos a granel, buffer de lavado y agua corriente, estén llenos y que los recipientes de residuos peligrosos y no peligrosos estén vacíos.
- 5.9 Dar click en la pestaña Cebiar tampón y agua corriente para evitar la salida de burbujas por las mangueras de distribución.
- 5.10 Retirar los soportes del recipiente con buffer y con una pizeta lavar las láminas con buffer de lavado por adelante y por atrás.
- 5.11 Secar los bordes de las láminas y marcar la zona de procesamiento.
- 5.12 Colocar los soportes con las láminas en los racks correspondientes, dejar humedecido con buffer de lavado. Dar la opción de INICIAR, para el escaneo de láminas y reactivos.
- 5.13 En el mensaje de portaobjetos detectados, si todo se encuentra conforme, seleccionar SI para dar inicio a la ejecución, pero si se observa algunas alertas, corregirlas.
- 5.14 Seleccionar ACEPTAR para confirmar que los contenedores a granel tienen suficiente líquido para el proceso.
- 5.15 Esperar que termine el procesamiento automático y colocar las láminas en una canastilla para proceder a contrastar.
- 5.16 Imprimir informe de trabajo. Seleccionar LISTO para terminar con el proceso y eliminar desechos.

### 6. CONTRASTE DE MUESTRAS

- 6.1 Contrastar con Hematoxilina de Harris por 10 a 15 segundos. Modificar tiempo según la maduración del colorante. Lavar con agua corriente por 1 minuto.
- 6.2 Pasar por Agua alcalina entre 3 a 5 segundos y después lavar con agua corriente.
- 6.3 Observar al microscopio e incrementar el tiempo de hematoxilina si fuese necesario.

### 7. MONTAJE DE LÁMINAS

- 7.1 Realizar la deshidratación con alcoholes de menor a mayor concentración: Dos alcoholes corrientes de 96°C y dos alcoholes absolutos 99.6°C por 2 minutos cada uno.
- 7.2 Realizar el aclaramiento de las muestras con xilol o sustituto de xilol.



**GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA**

- 7.3 Colocar las laminillas cubre objeto en la mesa y agregar una gota de solución de montaje (Entellan o Neoclear).
- 7.4 Tomar una lámina con la muestra hacia abajo y presionar levemente sobre la laminilla.
- 7.5 Limpiar con una tela el exceso de solución de montaje.
- 7.6 Etiquetar las láminas según el código correspondiente.

**8. ENTREGA DE LÁMINAS**

- 8.1 Entregar láminas al Médico Patólogo correspondiente (Anexo 4).
- 8.2 Entregar los bloques de parafina a archivo.

**b. Indicaciones**

La Inmunohistoquímica es una técnica utilizada como apoyo al diagnóstico Médico especializado. Es indicada para la tipificación de diferentes enfermedades y como estudio complementario de casos que cuentan con cierta complejidad.

**c. Riesgos o complicaciones frecuentes**

Desprendimiento de las muestras de las láminas. Dejar secar bien las láminas y desparafinar con los tiempos correspondientes.

**d. Riesgos o complicaciones poco frecuentes**

Reacción inadecuada de anticuerpos empleados. Verificar fecha de caducidad, procedencia de casa comercial y ajustar tiempos.

**e. Contraindicaciones**

Muestras descalcificadas con ácido nítrico u otro descalcificador fuerte están contraindicadas para esta prueba pues daña los antígenos e impide su detección. El descalcificador a usar debe ser uno suave y compatible con este estudio.

**VIII. RECOMENDACIONES**

- Durante la fijación, se debe tener ciertas consideraciones para evitar la pérdida de las moléculas que se desea detectar en Inmunohistoquímica. La fijación debe ser suficiente para que la muestra quede bien fijada pero no excesiva para evitar deterioros o alteraciones del tejido.
- Verificar que se cuente con todos los reactivos necesarios para el proceso esto ayudará a evitar el gasto innecesario de otros reactivos.

Enero del 2019

Código: GP-004/INSN-SB/USDYT-SAP:V.01

Página 10 de 17





### GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA

- Temperar los reactivos antes de ser usados por 10 a 15 minutos. Respetar los tiempos establecidos
- La validación de los resultados de Inmunohistoquímica se debe realiza con la observación de la reacción de los controles de calidad positivos de cada uno de los marcadores en estudio.
- Los resultados de Inmunohistoquímica deben ser correlacionados con los resultados obtenidos en la coloración de hematoxilina y eosina, así como estudios de inmunofluorescencia y microscopia electrónica, si fuera necesario, para un adecuado diagnóstico.
- Cada vez que se cambie de casa comercial y/o clona de determinado anticuerpo pueden presentarse cambios en los protocolos estandarizados por lo cual este debe ser estandarizado nuevamente para un óptimo resultado. (Anexo n°4)

### IX. AUTORES, FECHA Y LUGAR

- Lista de Autores y correos electrónicos:

Lic. T.M. Susan Ramos Meza

sramosm@insnsb.gob.pe

- Fecha de elaboración y lugar del procedimiento:

Enero 2019, Instituto Nacional Del Niño San Borja/Servicio de Anatomía Patológica.

- Vigencia:

2 años, a partir de su aprobación

Enero del 2019

Código: GP-004/INSN-SB/USDYT-SAP:V.01

Página 11 de 17





PERÚ  
Ministerio de Salud

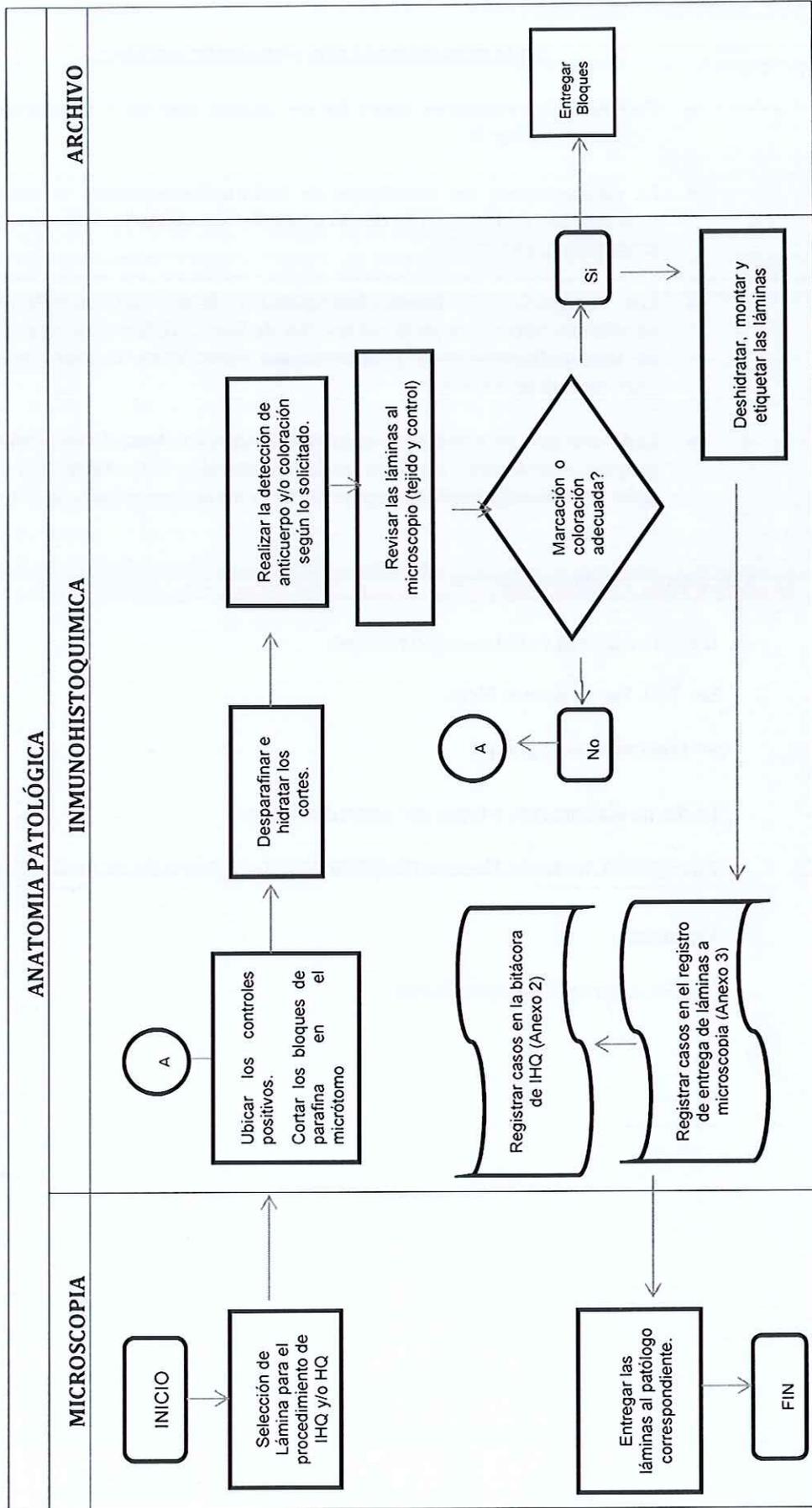
Instituto Nacional de Salud del Niño-San Borja



GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA

X. ANEXOS

ANEXO N°1: FLUJOGRAMA DE INMUNOHISTOQUÍMICA





GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA  
ANEXO N°2: SOLICITUD DE ESTUDIO DE COLORACIONES ESPECIALES



SOLICITUD DE ESTUDIO ANATOMOPATOLOGICO SERVICIO DE ANATOMIA PATOLOGICA	DATOS DEL PACIENTE				CODIGO AP:
	APELLIDOS Y NOMBRES				
EDAD	SEXO	SERVICIO	HC	FECHA DE SOLICITUD	

INMUNOHISTOQUIMICA

ANTICUERPO	FV	ANTICUERPO	FV	ANTICUERPO	FV
Actina Smooth Muscle	ene-12	CD68	ene-19	NI-1	abr-19
AFP	mar-18	CD79a	mar-18	Kappa light chain	feb-16
Bcl2	feb-16	CD99	abr-18	Nidlin-1	NI
Bcl6	abr-16	CD117 c kit	ene-18	ki 57	oct-18
Calretinina	jun-12	CD138	sep-16	Lambda light chain	ene-16
Cytomegalovirus	ene-19	CD163	may-18	Langerin	sep-16
CD3	sep-18	CD246 ALK	sep-17	Neu-N	NI
CD4	may-18	CEA	dic-17	Mieloperoxidasa	ago-17
CD1a	jun-12	CK Cocktail	ene-19	Myogenin	sep-16
CD4	abr-18	CK5 Rmab	abr-19	Myosin Smooth	may-17
CD5	feb-17	CK7	jul-17	MyoD1	oct-16
CD7	ago-19	CK19	mar-18	Neurofilamento	ago-18
CD8	ago-16	CK20	mar-18	NSE	ago-19
CD10	sep-18	Collagen Type IV	oct-18	OCT-4	may-18
CD11	oct-20	Desmin	sep-18	Olig-2	NI
CD15	ago-17	EBV	ago-16	Pax 5	may-18
CD19	oct-19	E-cadherina Rmab	ene-19	Perforin	may-17
CD20	ago-19	EMA	may-17	PLAP	nov-16
CD21	may-18	FLI-1	mar-21	Podoplanin	dic-17
CD23	abr-18	GFAP	may-18	p53	mar-18
CD90	ago-18	GLUT1	abr-18	SV40	oct-17
CD31	jun-18	GlycophorinA	oct-16	Synaptophysin	jun-18
CD33	dic-19	Graysyme B	ene-16	S-100	feb-19
CD34	jun-18	HCG	oct-16	TDT	feb-18
CD35	ene-18	HLA DR	sep-21	TIA-1	may-17
CD43	sep-18	Herpes Simplex virus	feb-19	Vimentin	ago-17
CD45	feb-19	HMB-45	mar-20	Von Willebrand	feb-18
CD56	nov-16	IgG4 Rmab	oct-18	WT-1	feb-20
CD61 platelet	feb-20	IgM	feb-18		

INMUNOFLUORESCENCIA:

ANTICUERPO	ANTICUERPO
CIC	IS-10
CSC	IS-12
CAD	INTEGRINA B-4
COLAGENO IV	KAPPA
COLAGENO VII	LAMBDA
CR14	LAMPINA
FIBRINOGENO	PLAQUINA
HLA	

MICROSCOPIA ELECTRONICA:

MUESTRA FRESCA FIJADA EN GLUTARALDEHIDO
MUESTRA EN SUSPENSION DE CULTIVOS
MUESTRA OBTENIDA POR CEPILLADO
RECUPERACION DE TEJIDO FIJADO EN FORMOL
RECUPERACION DE TEJIDO INCLUIDO EN PARAFINA

HISTOQUIMICA:

AURAMINA	GROCCOTT	PAS DIASTASA	VAN GIESON
ALCIAN BLUE	DESPIGMENTACION DE MELANINA	PERLS	VERHOEFF
AZUL DE TOLUIDINA	FONTANA DE MASSON	RETICULINA	VON KOSSA
BROWN-BRENN	METEN PLATA	RODANINA	WARTHIN STARRY
CRISTAL VIOLETA	OIL RED	ROJO CONGO	ZIEHL NEELSEN
GIESSA	PAS	SUDAN III o IV	
GRAM	PAS / ALCIAN BLUE	TRIC MASSON	

FIRMA Y SELLO DEL MEDICO SOLICITANTE











GUÍA DE PROCEDIMIENTO: INMUNOHISTOQUÍMICA

**XI. BIBLIOGRAFIA**

1. Kalyuzhny A. Immunohistochemistry Essential elements and beyond. 2da ed. United States of America. Springer. 2016
2. Martín Lacave I, Gracia Caballero T. Atlas de Inmunohistoquímica. Bases conceptuales en Inmunohistoquímica. 3era ed. España. Diaz de Santos. 2012
3. Buchwalow I, Böcker W. Immunohistochemistry: Basics and Methods. 2da ed. Germany. Springer. 2010
4. Bancroft J, Gamble M. Theory and practice of histological techniques. 6ta ed. England. Churchill Livingstone. 2008

