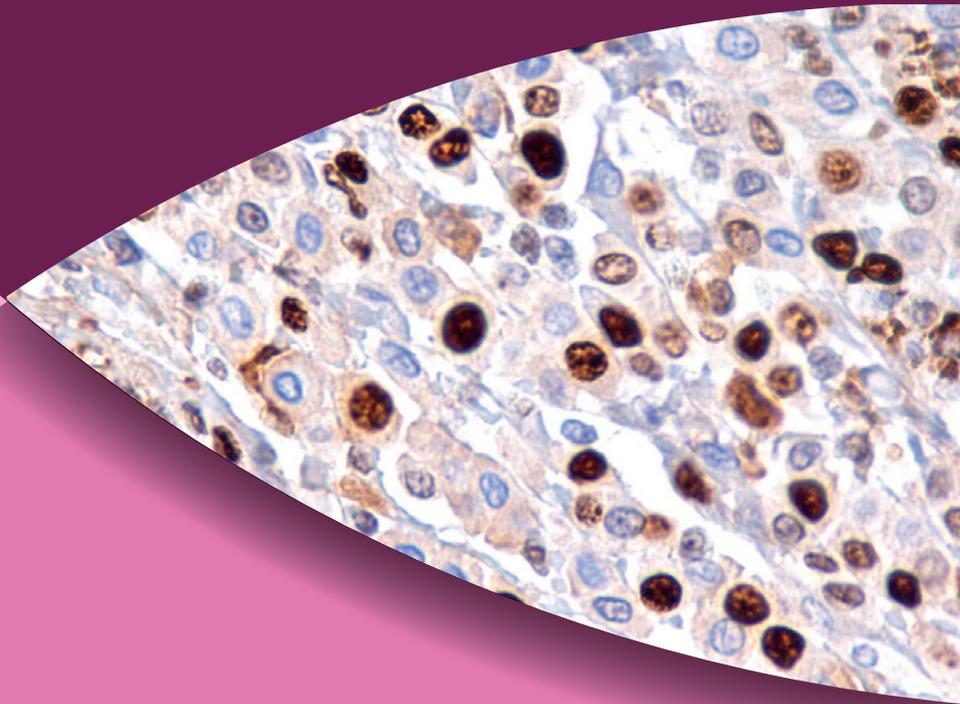


# Imuno-histoquímica



A Imuno-histoquímica é um método de diagnóstico complementar amplamente utilizado na prática da anatomia patológica e que utiliza o princípio antígeno-anticorpo para determinar a expressão de biomarcadores específicos em diferentes tipos de células e tecidos. Possibilita uma análise semi-quantitativa de proteínas-alvos permitindo avaliar sua expressão, distribuição e localização.

A base da imuno-histoquímica é a reação antígeno-anticorpo, sendo o antígeno uma molécula, geralmente uma proteína ou polissacarídeo, capaz de deflagrar uma resposta imunológica com a produção de anticorpos que o reconhecem e estabelecem ligações. A porção do antígeno que interage com o anticorpo é chamada de epítopo.

## Anticorpos

Para garantir a qualidade do exame, anticorpos primários de alta qualidade devem ser utilizados, devido a especificidade antigênica. Para garantir a especificidade, atenção especial deve ser dada ao clone utilizado, visto que a conformação da proteína pode mudar durante a reativação.

Além disso, outro ponto de atenção é a utilização de anticorpos monoclonais ou policlonais. Anticorpos monoclonais se ligam a um único epítipo da proteína alvo, reduzindo a incidência de ligações não específicas. Já os policlonais, por se ligarem a vários epítopos da mesma proteína alvo, aumenta a sensibilidade por ser menos afetada pelas mudanças na conformação proteica após a recuperação antigênica e aumenta o sinal, por obter mais ligações.

O DB patologia utiliza apenas anticorpos padronizados e validados na plataforma Dako agilent. Todos os processos seguem um rígido processo de validação interna conforme preconizado pela Nordic immunohistochemical Quality Control (NordiQC)

O anticorpo reconhece o antígeno pela especificidade de seu parátipo, desenhado para se ligar a epítopos particulares.

## Métodos de detecção

Os anticorpos utilizados na técnica de imuno-histoquímica são marcados utilizando-se substâncias fluorescentes, enzimático cromogênico, radioativos ou ouro coloidal que são ligados a estes anticorpos, permitindo a visualização em microscópio comum ou de fluorescência, quando utilizados fluorocromos. Os métodos de detecção mais utilizados são:

1 - Método direto - o marcador é ligado ao anticorpo primário, que se liga diretamente ao antígeno alvo;

2 - Método Indireto - além do anticorpo primário, é utilizado um anticorpo secundário e este está conectado ao marcador. Este método tem maior sensibilidade se comparado ao direto, pelo fato de os anticorpos secundários reagirem a diferentes antígenos presentes no anticorpo primário, o que leva a uma amplificação de sinal;

3 - Método de Amplificação de Sinal - também conhecido como método "Sanduíche" é o mais comum. Utiliza-se um anticorpo primário, um secundário e um marcador de complexo enzimático, em geral, o Avidina-Biotina ou por polímeros para amplificação do sinal visual.

## Controle de Qualidade

A execução das técnicas de controle de qualidade é uma das etapas pré-analíticas mais importantes da imuno-histoquímica, por isso o DB conta com equipe técnica de profundo conhecimento e faz uso de reagentes padronizados e de alta qualidade.

No controle de qualidade devem ser avaliados tanto os reagentes como a viabilidade e fixação da amostra de tecido.

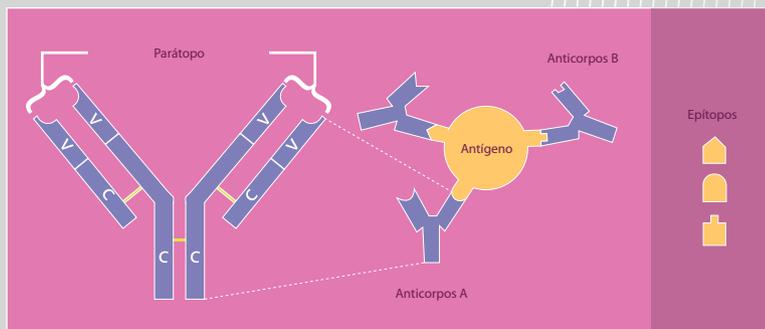


Figura 1 - Reação Antígeno - Anticorpo

		Metodos de Amplificação de Sinal		
Direto	Indireto	ABC	LSAB	Polímeros
<ul style="list-style-type: none"> <li>★ Marcador enzimático</li> <li>▲ Anticorpo Primário</li> <li>■ Antígeno</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>★ Marcador enzimático</li> <li>▲ Anticorpo secundário marcado</li> <li>▲ Anticorpo Primário</li> <li>■ Antígeno</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>★ Marcador enzimático</li> <li>▼ Biotina</li> <li>▲ Avidina</li> <li>▲ Anticorpo secundário marcado</li> <li>▲ Anticorpo Primário</li> <li>■ Antígeno</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>★ Marcador enzimático</li> <li>▼ Biotina</li> <li>▲ Avidina</li> <li>▲ Anticorpo secundário marcado</li> <li>▲ Anticorpo Primário</li> <li>■ Antígeno</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>★ Marcador enzimático</li> <li>— Polímero</li> <li>▲ Anticorpo secundário marcado</li> <li>▲ Anticorpo Primário</li> <li>■ Antígeno</li> </ul>

Figura 2 - Métodos de detecção

Para garantir a interpretação correta dos casos, é necessária a realização de controles positivos, sendo que a forma mais utilizada é o uso de amostras teciduais com expressão previamente conhecida para o marcador utilizado.

Da mesma forma, controles negativos são utilizados avaliando a especificidade do anticorpo, onde espera-se que não haja reações cruzadas.

## Fatores pré-analíticos

A fase pré-analítica, assim como na maioria das técnicas diagnósticas, também é crucial para a imuno-histoquímica. O principal fator, neste caso, está relacionado à preservação do material por meio da fixação com formalina 10% tamponada.

Após coletado, o tecido inicia imediatamente um processo de autodigestão, chamado autólise, que degradará as células de forma irreversível e proporcional ao tempo até a fixação correta. Idealmente, o material deve ser colocado em formalina 10% tamponada imediatamente após a coleta.

Devido a essa fixação na formalina, ocorrem alterações conformacionais dos epítopos, por isso faz-se necessário o tratamento dos tecidos para a reorganização proteica, o que define o processo de recuperação antigênica.

A recuperação antigênica aumenta a sensibilidade do método, evitando falsos negativos e pode ser feito por digestão enzimática ou calor.

## Aplicações

As aplicações mais comuns para a Imuno-histoquímica são:

- Confirmação diagnóstica;
- Classificação de tumores;
- Subtipagem de Linfomas e Leucemias;
- Diagnóstico de doenças infecciosas;
- Avaliação de mutações específicas;
- Diferenciação diagnóstica em neoplasias indiferenciadas;
- Predição de resposta terapêutica;
- Determinação de micrometástases;
- Determinação de sítio primário em neoplasias de origem desconhecida;
- Prognóstico de doenças;
- Pesquisa de infertilidade.

## Sistemas Automatizados e Manuais

O processamento da imuno-histoquímica pode ser feito de forma manual ou automatizada.

Os métodos automatizados melhoram o fluxo de trabalho e têm as seguintes vantagens:

- Padronização das reações, sendo independente de habilidades individuais;
- Alta reprodutibilidade dos testes, garantida pelo seguimento rígido de protocolos;
- Melhoria do controle de erros, pela automação;
- Monitoramento constante do processo;

O DB Patologia utiliza um sistema automatizado da Dako – Agilent, líder global no segmento de diagnósticos.



## Especialidades

Algumas especialidades como Neuropatologia, Sarcomas e Hematopatologia são reconhecidas de grande complexidade, sendo a qualidade do resultado muito dependente da qualificação e especialização do Patologista. Todas são cobertas pelo DB Patologia.



Conheça nossa equipe médica

## Imuno-histoquímica no SUS e Saúde Suplementar

O exame de imuno-histoquímica está previsto tanto no SUS – Sistema Único de Saúde, quanto no sistema suplementar, no ROL de Procedimentos para cobertura mínima, divulgado pela ANS.

## Nossos serviços

- Logística especializada e capilarizada, em todo território nacional
- Assessoria Médica e Científica
- Portfólio Completo de exames

## Referências

NOVUS BIOLOGICAS. Immunohistochemistry (IHC) Handbook. Disponível em: [http://images.novusbio.com/design/BR\\_IHCGuide\\_011017\\_web.pdf](http://images.novusbio.com/design/BR_IHCGuide_011017_web.pdf). Acesso em 2020.

TAYLOR, CR; RUDBECK, L. . Immunohistochemical Staining Methods. Sixth Edition. Dako. [https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/08002\\_ihc\\_staining\\_methods.pdf](https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/08002_ihc_staining_methods.pdf)

EXPEDEON - Immunohistochemistry Principles, uses and methods. Disponível em: <https://www.expedeon.com/immunohistochemistry-principles-uses-and-methods-2/>. Acesso em 2020

FERRO, AB. Imunohistoquímica. [livro on line]. Lisboa: 2013. <https://repositorio.ipl.pt/bitstream/10400.21/4569/1/Imunohistoqu%C3%ADmica.pdf>

Acesse outros materiais relacionados, **clique aqui**.

**SAIBA MAIS:**

✉ [sac.patologia@dbdiagnosticos.com.br](mailto:sac.patologia@dbdiagnosticos.com.br)  
☎ (15) 3226.8847