



HOSPITAL DE CLÍNICAS
Dr. Manuel Quintela

INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA EN BIOPSIAS DE RIÑÓN, FIJADAS EN FORMOL BUFFER, E INCLUIDAS EN PARAFINA.



"El arte de hacer visible lo invisible"

ASOCIACIÓN
MEXICANA DE
HISTOTECNOLOGÍA
A. C.

*Ana Carolina Soto; A. Carballo; M. Aunchayna; D. Centurión.

Cátedra de Anatomía Patológica, Hospital de Clínicas, "Dr. Manuel Quintela". Av. Italia S/N, Montevideo, Uruguay, Código postal: 11600. Teléfono: +5982481515 extensión: 2641 e-mail: acarosv@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La Inmunofluorescencia Directa (IFD), es fundamental para el desarrollo de la Nefropatología. En algunos casos la muestra renal de material crio-preservado no es representativa para la realización de IFD, y no es posible completar el estudio óptico.

Se ha puesto a punto la técnica de IFD en material fijado en formol e incluido en parafina. [1][4].

Nuestra experiencia al día de la fecha es de 6 años, con excelentes resultados.

OBJETIVO GENERAL

Demostrar que la técnica de IFD en material incluido en parafina tiene la misma sensibilidad que la realizada en material crio-preservado.

METODOLOGÍA

Cortes en microtomo de rotación a 3 µm, secado de láminas en estufa a 37°C. Desparafinado e hidratado hasta agua destilada, Buffer Tris en estufa a 37°C, durante 30'. Pretratamiento enzimático (Proteinasa K: 1 gota en 20 µl), lavado en buffer fosfato (PBS) por 15 minutos a 4°C, incubación con Anticuerpos diluidos 1/20 (IgA, IgG, IgM, C1q, C3, Fibrinógeno, Kappa y Lambda), a temperatura ambiente y a oscuridad, lavado en PBS 15 minutos, montaje con medio acuoso.

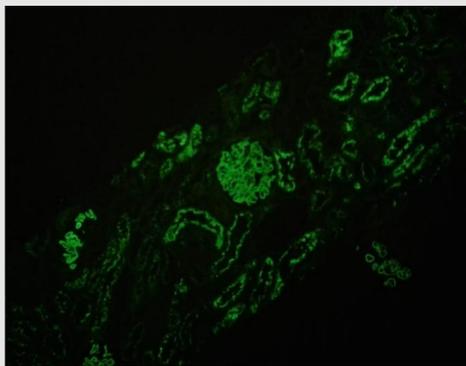


Figura 1. IgG. Topográfico. (4x)

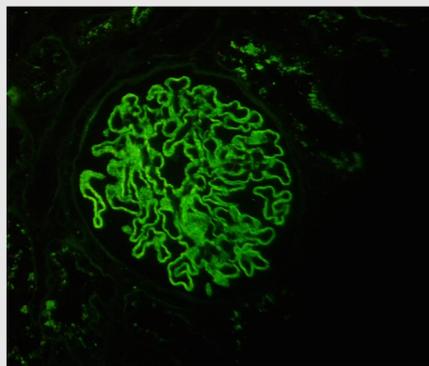


Figura 2. IgG (20x)
IgG (+++) Microgranular capilar
(Glomerulopatía Membranosa)

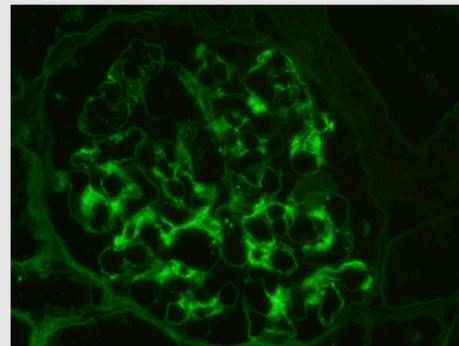


Figura 3. IgG Mesangial (parafina).

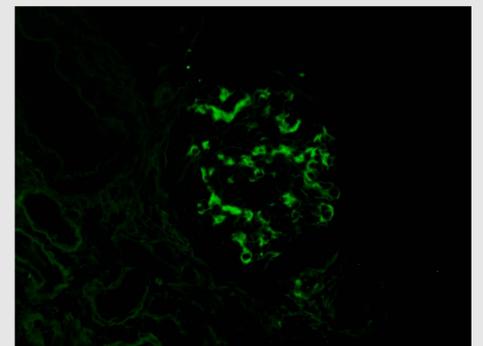


Figura 4. IgA Mesangial.
(parafina)

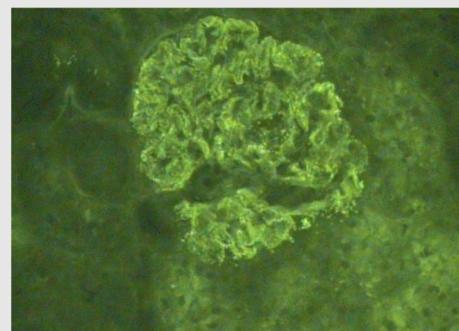


Figura 5. IgG (criopreservado).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos por éste método fueron testados con la técnica realizada en cortes criostáticos, no habiendo diferencias entre ambas.

Está descrito que en la Nefropatía C3 los resultados son óptimos mediante éste método; se atribuye ésto al desenmascaramiento de los epitopes antigénicos.[6]

La ventaja de ésta técnica son: la calidad del corte, el archivo de las láminas por hasta 30 días a 4°C pudiéndose observar la fluorescencia pasado ese tiempo. Recuperar material fijado en formol y poder repetir la técnica en material de archivo. [2][3][5]

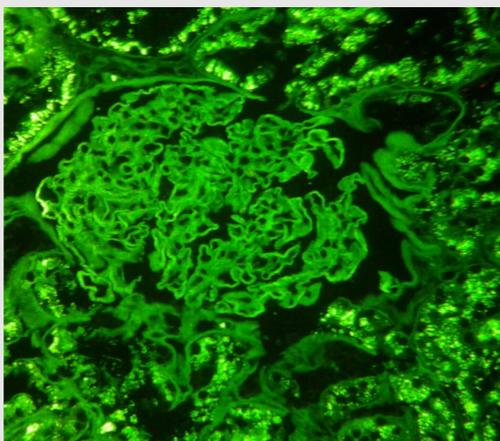


Figura 6. Kappa.
(material incluido en parafina)

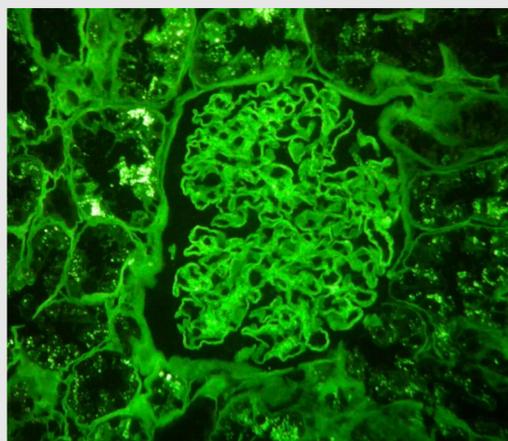


Figura 7. Lambda
(material incluido en parafina)

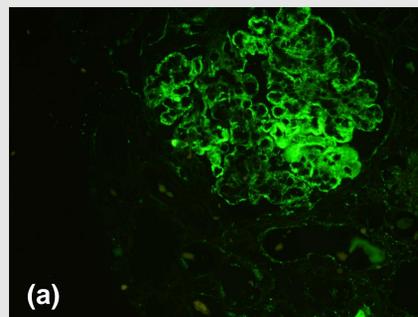


Figura 8. C3 comparativo: (a) material en parafina, (b) material criopreservado.

CONCLUSION

La fijación en formol y el material en parafina permite que la biopsia renal pueda ser transportada desde lugares lejanos, pudiendo realizar todas las técnicas, incluyendo la Inmunofluorescencia directa, con excelentes resultados.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- [1] Nasr, Hooman & Galgano, Samuel & Markowitz, Glen & Stokes, M. Barry & D'Agati, V. (2007). Immunofluorescence on pronase-digested paraffin sections: A valuable salvage technique for renal biopsies. *Kidney International*. 70. 2148-51. 10.1038/sj.ki.5001990.
- [2] Samih H. Nasr1, Mary E. Fidler1 and Samar M. Said1. Paraffin Immunofluorescence: A Valuable Ancillary Technique in Renal Pathology. *Kidney International Reports* (2018) 3, 1260-1266.
- [3] Messias, NC., Walker, P., & Larsen, Ch. Paraffin immunofluorescence in the renal pathology laboratory: more than a salvage technique. *Modern Pathology* (2015) 28, 854-860; doi:10.1038/modpathol.2015.1
- [4] Parra-Medina R., & Polo J. F. (2017). Inmunofluorescencia en tejidos fijados y preservados en parafina (IF-P). Una mirada desde la patología quirúrgica. *Revista Repertorio De Medicina Y Cirugía*, 26(4), 202-207.
- [5] Martul, E. (2013) Orientación diagnóstica de las enfermedades renales glomerulares. *Revista Española de Patología*, 46. 3-13. 10.1016/j.patol.2012.09.003.
- [6] Alpers CE, Rennke HG, Hopper J Jr, Biava CG. Fibrillary glomerulonephritis: an entity with unusual immunofluorescence features. *Kidney Int*. 1987 Mar; 31(3):781-9.