



Servicio Científico-técnico de Inmunohistoquímica

NORMAS DE FUNCIONAMIENTO

Servicio Científico-técnico de Inmunohistoquímica

ÍNDICE

1. Objetivos
2. Instalaciones y equipamiento
3. Tipo de muestras
4. Obtención y registro de muestras
5. Organización
 - a. Organigrama y personal
 - b. Usuarios
 - c. Beneficiarios
6. Controles de calidad
 - a. Controles de calidad internos
 - b. Controles de calidad externos
7. Normas de funcionamiento
 - a. Aspectos éticos
 - b. Derechos y deberes de los usuarios del Servicio de Inmunohistoquímica
 - c. Derechos y deberes del personal del Servicio de Inmunohistoquímica
8. Servicios y prestaciones
9. Solicitudes del Servicio
10. Tarifas
11. ANEXO 1

1. Objetivos

1. Ser una herramienta necesaria en investigación.
2. Dar apoyo a los grupos de investigación que lo soliciten para que puedan lograr sus objetivos con una calidad óptima.
3. Diseño de nuevos protocolos inmunohistoquímicos.
4. Utilizar la tecnología de los Tissue Micro Arrays (TMAs).
5. Análisis completo de los resultados mediante ACIS® III (Automated Cellular Imaging System).
6. Realización de controles de calidad para otros centros.
7. Formación básica para usuarios propios del Servicio, así como la posibilidad de impartir cursos/prácticas docentes en el marco de la Universitat de Lleida.
8. Establecer una dinámica de trabajo ágil para poder cubrir en todo momento las necesidades de investigación.

2. Instalaciones y equipamiento

El procesamiento de las muestras se realiza siguiendo los protocolos establecidos en el laboratorio, el cual dispone de tres aparatos (Immunoteñidores) que pertenecen, uno al IRBLleida los otros al Hospital Universitari Arnau de Vilanova. Cada aparato (Autostainer Link 48 y OMNIS, DAKO), siempre en conexión con un ordenador para controlar su funcionamiento, permite el procesamiento simultáneo de hasta 48 preparaciones. El Servicio también dispone de un aparato para el análisis de imágenes (ACIS® III Instrument, DAKO) con el correspondiente ACIS® III Software, un instrumento para la construcción de Tissue Micro Arrays de tejidos (Beecher Instruments TMA apparatus), de uso manual, y un aparato automatizado (TMA Grand Master (3D HISTECH)), a demás de dos aparatos (PTLink, DAKO) para el pretratamiento de las muestras, un micrótopo, una campana de protección biológica, un microscopio óptico, tres neveras-congelador, un kit de pipetas, etc.

Servicio Científico-técnico de Inmunohistoquímica

3. Tipo de muestras

El Servicio Científico-Técnico de Inmunohistoquímica permite el procesamiento de:

- Tejidos (humanos, animales) incluidos en parafina
- Tejidos congelados
- Citologías
- Cultivos celulares *in vitro*

4. Obtención y registro de muestras

- Obtención

En relación con las muestras de tejidos humanos, el acceso de éstas al Servicio se realiza a través del Biobanco del IRBLLeida.

En relación con las muestras de animales y cultivos celulares *in vitro*, el Investigador Principal las proporciona al técnico superior adscrito.

- Registro

El Servicio registra todas las tareas. Los aparatos del Servicio cuentan con su propio *software* específico de almacenaje de datos. A estos datos sólo tiene acceso el personal del Servicio de Inmunohistoquímica.

5. Organización

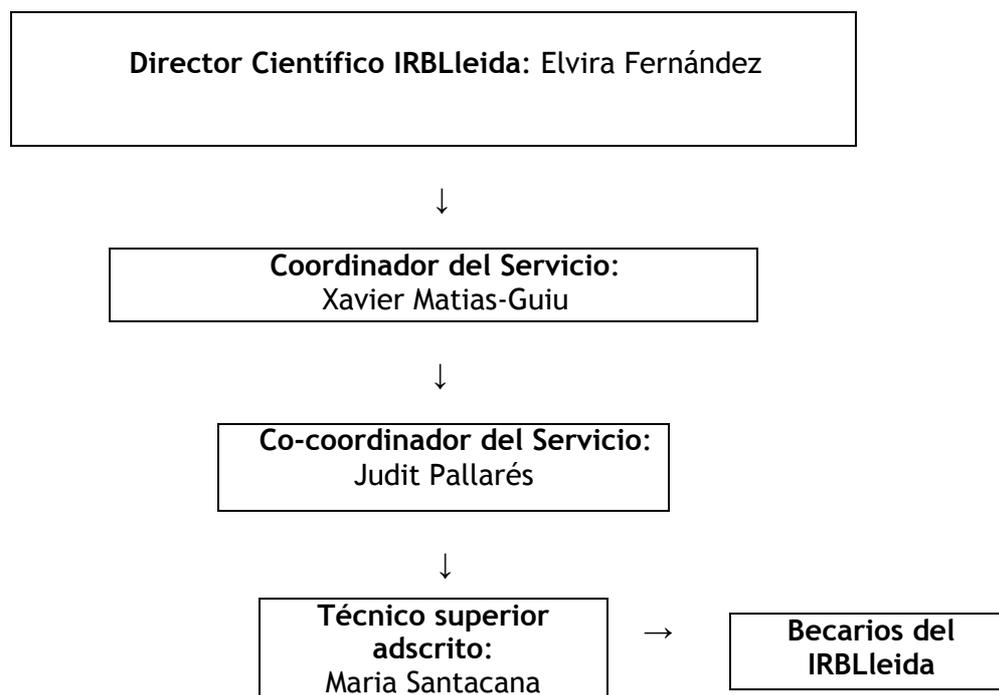
El Servicio Científico-técnico de Inmunohistoquímica del IRBLLeida es una estructura organizativa que depende directamente del director científico del IRBLLeida.

a. Organigrama y personal

El equipo de trabajo diario del Servicio Científico-Técnico de Inmunohistoquímica está formado por un técnico superior con dedicación completa, becarios del IRBLLeida con dedicación parcial y los coordinadores del Servicio con dedicación parcial. El técnico depende directamente del coordinador y del co-coordinador del Servicio.

Servicio Científico-técnico de Inmunohistoquímica

Organigrama



Las funciones del coordinador y del co-coordinador del Servicio de Inmunohistoquímica son las siguientes:

- Promover la actividad del Servicio entre los investigadores, grupos de investigación internos y externos, empresas, etc.
- Promover y dirigir la investigación propia del Servicio.
- Asegurarse que se cumplen las normas de funcionamiento del Servicio.
- Controlar y dirigir los presupuestos asignados a la actividad del Servicio.
- Convocar y asistir a las reuniones internas que tengan relación con el Servicio.
- Dirigir y asesorar al técnico superior adscrito.

Las funciones del técnico superior son las siguientes:

- Asegurarse que se cumplen las normas de funcionamiento del Servicio.

Servicio Científico-técnico de Inmunohistoquímica

- Realizar los presupuestos asignados a la actividad del Servicio.
- Atender a los usuarios siempre que lo necesiten.
- Asesorar y formar a los usuarios.
- Aplicar los procedimientos normalizados de trabajo.
- Asistir a las reuniones internas del Servicio.
- Disponer de los resultados lo más rápido posible después de establecer los criterios de prioridades.
- Realizar la investigación interna del Servicio.
- Responsabilizarse del buen funcionamiento diario del Servicio.

b. Usuarios

Los usuarios del Servicio de Inmunohistoquímica son el técnico superior adscrito y los becarios del IRB (con autorización previa de su IP (investigador principal) y del coordinador del Servicio de Inmunohistoquímica). Éstos tendrán que pasar por un período previo de formación.

c. Beneficiarios

Los beneficiarios directos del Servicio de Inmunohistoquímica son:

- Grupos de investigación internos IRBLleida
- Grupos de investigación de centros externos
- Grupos/centros privados/empresas

6. Controles de calidad

a. Controles de calidad internos

Los controles de calidad internos se realizan de forma rutinaria dentro del Servicio. El propio tejido a estudiar nos sirve, la mayoría de veces, para validar la técnica. A demás, se añaden cortes de tejidos o muestras celulares que actúan como controles positivos y negativos.

b. Controles de calidad externos

Los controles de calidad externos los podemos clasificar en dos tipos: los que realizan anualmente por parte de organismos externos o los que realiza el propio Servicio para otros centros.

Servicio Científico-técnico de Inmunohistoquímica

En relación al primer caso, se evalúan los resultados de las técnicas; como consecuencia, eso permite la mejora de los protocolos y la posibilidad de ofrecer un mejor servicio.

En relación al segundo caso, es el propio Servicio el que evalúa las técnicas inmunohistoquímicas de otros organismos. Eso permite actuar como Centro de Referencia y es un indicador de calidad del trabajo diario.

7. Normas de funcionamiento

a. Aspectos éticos y de confidencialidad

El órgano responsable de verificar los aspectos éticos, la calidad y la viabilidad de cada proyecto científico es el Comité Ètic d'Investigació Clínica (CEIC) y el Comité Ètic d'Experimentació Animal (CEEA) siempre de acuerdo con la legislación vigente:

- Ley 14/2007 de investigación biomédica
- Ley orgánica 15/1999 de protección de datos de carácter personal
- Convenio del consejo Europeo para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano, respecto a las aplicaciones de la biología y la medicina, que entró en vigor en España el 1 de enero del 2000.
- Protocolo adicional a la convención de Derechos Humanos y Biomedicina, en relación a la investigación biomédica (2005)
- Recomendación del Consejo de Europa sobre la investigación en material biológico de origen humano del 15 de marzo de 2006.
- Guía de buena práctica en la investigación en ciencias de la salud. Institut Català de la Salut, 2015.
- *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*; US Department of Health and Human Services, 4th edition.

Toda la información de carácter clínico será anónima y confidencial. El Servicio velará para proteger la integridad y la confidencialidad de todos los archivos de datos que se le faciliten.

b. Derechos y deberes de los usuarios del Servicio de Inmunohistoquímica

Servicio Científico-técnico de Inmunohistoquímica

Antes de iniciar los experimentos el usuario tendrá que seguir los siguientes pasos:

- Realizar una formación previa a la realización de los experimentos; ésta será impartida por parte del Técnico adscrito.
- Informar al Técnico adscrito de lo que se quiere realizar con la finalidad de poder organizar las tareas de la mejor manera posible.
- Mantener el Servicio en perfectas condiciones. Después de trabajar dejar el Servicio a punto para que nuevos usuarios puedan trabajar. Responsabilizar-se del sitio y las herramientas de trabajo.
- Consultar cualquier incidencia y cualquier duda con el Técnico adscrito.

c. Derechos y deberes del personal del Servicio de Inmunohistoquímica

- El personal del Servicio de inmunohistoquímica y diagnóstico molecular es el responsable de la organización y el buen funcionamiento diario del Servicio.
- Impartir la formación adecuada a los nuevos usuarios del Servicio.
- Consultar cualquier incidencia y cualquier duda con el coordinador y co-coordinador del Servicio.

8. Servicios y prestaciones

Las aplicaciones que se pueden realizar actualmente al Servicio de Inmunohistoquímica son:

- Protocolo inmunohistoquímico para la detección de proteínas en tejidos humanos y de ratón mediante anticuerpos concentrados o pre diluidos producidos en *goat*, *mouse* o *rabbit*.. (ver anticuerpos disponibles en ANEJO 1: Listado 1, Listado 2).
- Construcción de *Tissue Micro Arrays* (diámetros cilindros de 0,6mm a 2mm).
- Protocolo inmunohistoquímico de dobles tinciones. Detección de dos proteínas simultáneamente en una misma sección de tejido.
- Técnica de inmunofluorescencia.
- Tinciones especiales (Histoquímica).
- Tinciones histológicas (Hematoxilina-Eosina).

Servicio Científico-técnico de Inmunohistoquímica

- Análisis de imágenes de secciones completas o de Tissue Micro Arrays mediante el ACIS® III Instrument.
- Hibridación *in situ* mediante FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) o CISH (Chromogenic In Situ Hybridization).
- Controles de calidad.

No se descarta poner a punto otras técnicas que se deseen realizar.

9. Solicitudes de Servicio

1. El investigador Principal o solicitante se pondrá en contacto con el coordinador del servicio o con el técnico superior adscrito.
2. Se facilitará un presupuesto al solicitante de acuerdo con los servicios requeridos.
3. A continuación se formalizará la solicitud de Servicio. A la web del IRBLLeida se puede encontrar el documento de “Solicitud de servei”.

10. Tarifas

A la web del IRBLLeida se pueden consultar las tarifas del Servicio.

9. ANEJO 1

LISTADO 1 ANTICUERPOS PRIMARIOS	
ALDH1 anti mouse	KSR1
ALDH1	LPCAT1
ANNEXIN II	LYVE1 (rabbit anti-mouse)
ARID1A	MMP1
BAD	Mtor
BAP1	MUSASHI
BCATENIN	N-CADHERIN
BNIP3	NFKB P65
CANNABINOID RECEPT I	NFKB P65
CANNABINOID RECEPT II	NFKB phospho P65
CLEAVED CASPASE 3	Nestin
CASPASE-3	NICASTRIN
ACTIVE CASPASE-3	activated NOTCH1
CD11B	NRF2
CD105	Oct-4
CD123	PD1
CD133	PDGFR ALPHA
CD163	PD-L1
CD20 (rabbit anti mouse)	Phospho-Histone H3
CD3E (goat anti-mouse)	p105/p50
CD31 (rat anti mouse)	p110/p52
CD31(rabbit anti-mouse)	Pakt
CD33	PERK
CD44	PMTOR (SER2448)
CD59	Ps6k1
CD8	P4ebp1
CD8	P14ARF
CD9	p21
CD11B anti mouse, human	p27
CD11c (hamster anti-mouse)	P65
CLDN3	PP65
CLDN4	PNP
c-MYC	PRESENILIN 2
CHK1 (phospho S345)	Proteasome b4
CYP2R1	Pvegfr3
CYP24A1	RASSF1A
CYP27A1	RB
Cyclin E	SOX2
DCR1	SPOP
EGFR(E746-A750del)	STK15/6-AIK-AURKA
EGFR(L858R Mutant)	TCR g/d (AB ONLINE)
FGFR1	TCR g/d (NV)
FGFR2	TELOMERASE
FGFR4	TLR4
FGFR4	UCKL1
FLIP S/L	VDR
FOXP3	XANTINE OXIDASE
GUANINE DEAMINASE	
H2AX (phospho S139)	
HIF1A	
HIF1A	
HIF1A	
HSP70	
HSP90	
ki 67(rat anti-mouse)	
Ki67 (rabbit anti-mouse)	

Servicio Científico-técnico de Inmunohistoquímica

LISTADO 2 ANTICUERPOS PRIMARIOS		
(Muscle) Actin	Cytoqueratin 17	Myogenin
(Smooth Muscle) Actin	Cytoqueratin 19	Napsin A
Alpha-inhibin	Cytokeratin 20	NSE (Eolasa)
Alpha-1-Fetoprotein	Cyclin D1	Neurofilament Protein
ALK protein	C-MYC	OCT 3/4
ALK	D2-40	P40
Amyloid A	Desmin	PAX2
Androgen Receptor	Dpc4	PAX5
ARID1A	DOG-1	PAX8
B- Catenin	EGFR	PD1
Ber-Ep4	E-cadherin	PLAP
Bcl-2	EMA	PMS2
Bcl-6	Epithelial-related antigen	Progesterona Receptor
BRG-1	ERG	PSA
Calcitonin	Estrogen Receptor	PTEN
Caldesmon	Gastrin	P16
Calretinin	GATA3	p53
CD1a	GCDFP15	P57
CD2	GFAP	P63
CD 3	GLIPICAN-3	P504S (Racemase)
CD 4	GLICOPHORINA A	Myosin
CD 5	GLUT1	SALL4
CD 7	Granzime B	SDHA
CD 8	Helicobacter Pylori	SDHB
CD 10	Hepatocyte	Somatostatin
CD 15	Herpes Virus I	SOX10
CD20cy	Herpes Virus 8	Synaptophysin
CD 21	HBsAg	S-100
CD 30	IDH1	TDT
CD 31	HER2	TIA-1
CD 34	HIK1083	Thyroid Cancer Marker
CD 43	HMGA2	Thyroglobulin
CD 45 RA	HNF1β	TLE
CD 45 RO	IgA	TTF-1
CD 45 (leucocitari comú)	Ig D	Villin
CD56	Ig G	Vimentin
CD 61	IgG4	WT-1
CD 68	IMP2	
CD 79 alfa	IMP3	
CD 99	INI-1	
CD 117 (c-Kit)	Insulin	
CD 138	Kappa	
CDK4	Ki-67	
CDX2	Lambda	
CEA	LMP	
Chorionic Gonadotropin (Bhcg)	Mammaglobin	
Chromogranin A	MDM2	
CMV	Melan-A	
Colagen IV	Melanosome (HMB-45)	
Colagen XI	MLH-1	
Cytokeratin AE1/AE3	MSH-2	
Cytokeratin HMW (prostàtica)	MSH-6	
Cytokeratin 7	MUC1	
CK5/6	MUC2	
Cytoqueratin 14	MUM1	
Cytoqueratin 15	Myeloperoxidase	