



Servei Científic-tècnic d'Immunohistoquímica

NORMES DE FUNCIONAMENT

ÍNDEX

1. Objectius
2. Instal·lacions i equipament
3. Tipus de mostres
4. Obtenció i registre de mostres
5. Organització
 - a. Organigrama i personal
 - b. Usuaris
 - c. Beneficiaris
6. Controls de qualitat
 - a. Controls de qualitat interns
 - b. Controls de qualitat externs
7. Normes de funcionament
 - a. Aspectes ètics
 - b. Drets i deures dels usuaris del Servei d'Immunohistoquímica
 - c. Drets i deures del personal del Servei d'Immunohistoquímica
8. Serveis i prestacions
9. Sol·licituds de servei
10. Tarifes
11. ANNEX 1

Servei Científic-tècnic d'Immunohistoquímica

1. Objectius

1. Ser una eina necessària en la recerca.
2. Oferir suport als grups d'investigació que ho demanin per tal que puguin aconseguir els seus objectius científics amb una qualitat òptima.
3. Disseny de nous protocols immunohistoquímics.
4. Utilitzar la tecnologia dels Tissue Micro Arrays (TMAs).
5. Anàlisi complert dels resultats mitjançant ACIS® III (Automated Cellular Imaging System).
6. Realització de controls de qualitat per a altres centres pel que fa a la immunohistoquímica i la hibridació *in situ*.
7. Formació bàsica per a usuaris propis del Servei, així com la possibilitat d'impartir cursos/pràctiques docents en el marc de la Universitat de Lleida.
8. Establir una dinàmica de treball àgil per a poder cobrir en tot moment les necessitats de recerca.

2. Instal·lacions i equipament

El processament de les mostres es realitza seguint els protocols establerts al laboratori, el qual disposa de tres aparells (Immunotenyidors) que pertanyen, l'un a l'IRB Lleida i els altres a l'Hospital Universitari Arnau de Vilanova. Cada aparell (Autostainer Link 48 i OMNIS, DAKO), sempre en connexió a un ordinador per a controlar-ne el funcionament, permet el processament simultani de fins a 48 preparacions. El Servei també disposa d'un aparell per a l'anàlisi d'imatges (ACIS® III Instrument, DAKO) amb el corresponent ACIS® III Software, un instrument per a la construcció de Tissue Micro Arrays de teixits (Beecher Instruments TMA apparatus), d'ús manual, i un aparell automatitzat (TMA Grand Master (3D HISTECH)), a més de dos aparells (PTLink, DAKO) per al pretractament de les mostres, un microtom, una campana de protecció biològica, un microscopi òptic, tres neveres-congelador, un kit de pipetes, etc.

Servei Científico-tècnic d'Immunohistoquímica

3. Tipus de mostres

El Servei Científico-Tècnic d'Immunohistoquímica permet el processament de:

- Teixits (humans, animals) inclosos en parafina
- Teixits congelats
- Citologies
- Cultius cel·lulars *in vitro*

4. Obtenció i registre de mostres

- Obtenció

Pel que fa a les mostres de teixits humans, l'accés d'aquestes al Servei es realitza a través del Biobanc de l'IRBLLeida.

Pel que fa a les mostres de teixits animals i cultius cel·lulars *in vitro*, l'Investigador Principal les proporciona al tècnic superior adscrit.

- Registre

El servei registra totes les tasques. Els aparells del servei compten amb el seu propi software específic d'emmagatzematge de dades. A aquestes dades només hi té accés el personal del servei d'Immunohistoquímica.

5. Organització

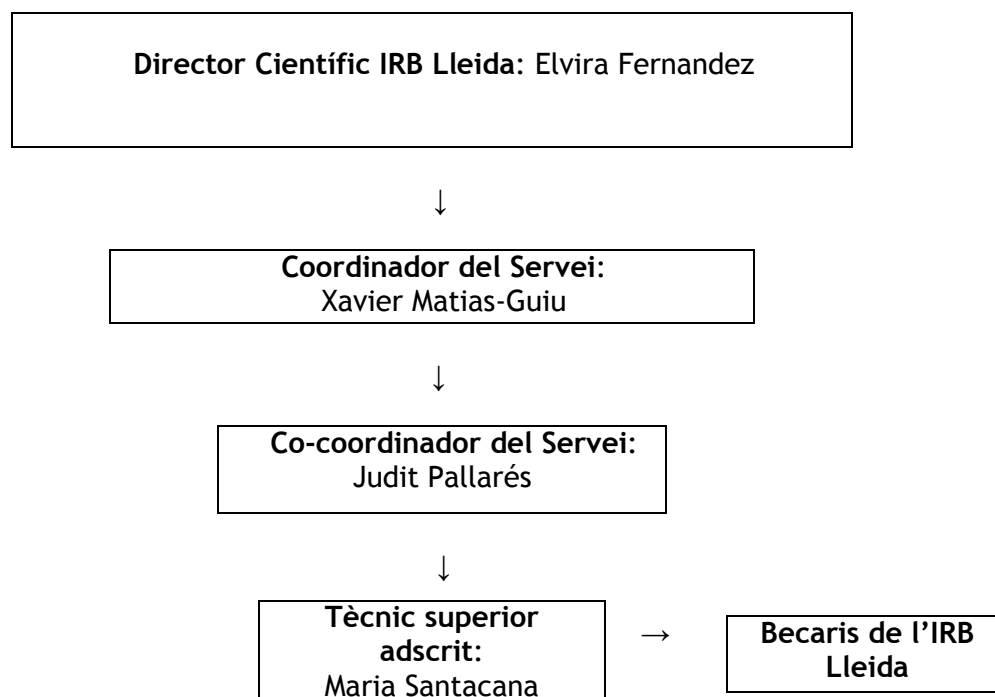
El Servei Científico-tècnic d'Immunohistoquímica de l'IRBLLeida és una estructura organitzativa que depèn directament del director científic de l'IRBLLeida.

a. Organigrama i personal

L'equip de treball diari del Servei Científico-Tècnic d'Immunohistoquímica està format per un tècnic superior amb dedicació completa, becaris de l'IRBLLeida amb dedicació parcial i els coordinadors del Servei amb dedicació parcial. El tècnic depèn directament del coordinador i del co-coordinador del Servei.

Servei Científic-tècnic d'Immunohistoquímica

Organigrama



Les funcions del coordinador i del co-coordinador del Servei d'Immunohistoquímica són les següents:

- Promoure l'activitat del Servei entre els investigadors, grups de recerca interns i externs, empreses, etc.
- Promoure i dirigir la recerca pròpia del Servei.
- Assegurar-se que es compleixen les normes de funcionament del Servei.
- Controlar i dirigir els pressupostos assignats a l'activitat del Servei.
- Convocar i assistir a les reunions internes que tinguin a veure amb el Servei.
- Dirigir i assessorar al tècnic superior adscrit.

Les funcions del tècnic superior són les següents:

Servei Científic-tècnic d'Immunohistoquímica

- Assegurar-se que es compleixen les normes de funcionament del Servei.
- Realitzar els pressupostos assignats a l'activitat del Servei.
- Atendre els usuaris sempre que ho necessitin.
- Assessorar i formar als usuaris.
- Aplicar els procediments normalitzats d'ús del maquinari.
- Assistir a les reunions internes del Servei.
- Disposar dels resultats el més aviat possible després d'establir els criteris de prioritats.
- Realitzar la recerca interna del Servei.
- Responsabilitzar-se del bon funcionament diari del Servei.

b. Usuaris

Els usuaris del Servei d'Immunohistoquímica i diagnòstic molecular són el tècnic superior adscrit i els becaris de l'IRB (amb autorització prèvia del seu IP (investigador principal) i del coordinador del Servei d'Immunohistoquímica). Aquests darrers hauran de passar per un període previ de formació.

c. Beneficiaris

Els beneficiaris directes del Servei d'Immunohistoquímica són:

- Grups de recerca interns IRBLleida
- Grups de recerca de centres externs
- Grups/centres privats/empreses

6. Controls de qualitat

a. Controls de qualitat interns

Els controls de qualitat interns es realitzen de manera rutinària dins del servei. El propi teixit a estudi ens serveix, la majoria de vegades, per a validar la tècnica. A més, s'afegeixen talls de teixits o mostres cel·lulars que actuen com a controls positius i controls negatius.

b. Controls de qualitat externs

Servei Científic-tècnic d'Immunohistoquímica

Els controls de qualitat externs els podem classificar en dos tipus: els que es duen a terme anualment per part d'organismes aliens, i els que duu a terme el propi Servei d'Immunohistoquímica a altres organismes.

Pel que fa al primer cas, al control de qualitat al qual es participa s'avaluen els resultats de les tècniques; com a conseqüència, això permet la millora dels protocols i la possibilitat d'oferir un millor servei.

Referent al segon cas, és el propi Servei el que avalua les tècniques immunohistoquímiques i moleculars d'altres organismes. Això permet actuar com a Centre de Referència i és un indicador de qualitat de la tasca diària.

7. Normes de funcionament

a. Aspectes ètics i de confidencialitat

L'òrgan responsable de verificar els aspectes ètics, la qualitat i la viabilitat de cada projecte científic és el Comité Ètic d'Investigació Clínica (CEIC) i el Comité Ètic d'Experimentació Animal (CEEA) sempre d'acord amb la legislació vigent:

- Llei 14/2007 d'investigació biomèdica
- Llei orgànica 15/1999 de protecció de dades de caràcter personal
- Conveni del consell d'Europa per a la protecció dels drets humans i la dignitat de l'ésser humà, respecte de les aplicacions de la biologia i la medicina, que va entrar en vigor a Espanya l'1 de gener de 2000.
- Protocol addicional a la convenció de Drets Humans i Biomedicina, en relació a la investigació biomèdica (2005)
- Recomanació del Consell d'Europa sobre la investigació en material biològic d'origen humà del 15 de març de 2006.
- Guia de bona pràctica en la investigació en ciències de la salut. Institut Català de la Salut, 2015.
- *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*; US Department of Health and Human Services, 4th edition.

Tota la informació de caràcter clínic serà anònima i confidencial. El servei vetllarà per protegir la integritat i la confidencialitat de tots els arxius de dades que se li facilitin.

Servei Científic-tècnic d'Immunohistoquímica

b. Drets i deures dels usuaris del Servei d'Immunohistoquímica

Abans d'iniciar els experiments l'usuari haurà de seguir els següents passos:

- Dur a terme una formació prèvia a la realització dels experiments; aquesta serà impartida pel Tècnic adscrit.
- Informar al Tècnic adscrit del que es vol realitzar a fi de poder organitzar les tasques de la millor manera possible.
- Mantenir el Servei en perfectes condicions. Després de treballar deixar el Servei a punt perquè nous usuaris hi puguin treballar. Responsabilitzar-se del lloc i de les eines de treball.
- Consultar qualsevol incidència i qualsevol dubte amb el Tècnic adscrit.

c. Drets i deures dels usuaris del Drets i Deures del personal del Servei d'Immunohistoquímica

- El personal del Servei d'immunohistoquímica és el responsable de la organització i el bon funcionament diari del Servei.
- Impartir la formació adequada als nous usuaris del Servei.
- Consultar qualsevol incidència i qualsevol dubte amb el coordinador i co-coordinador del Servei.

8. Serveis i prestacions

Les prestacions que es poden realitzar actualment al Servei d'Immunohistoquímica són:

- Protocol immunohistoquímic per a la detecció de proteïnes en teixits humans i de ratolí mitjançant anticossos concentrats o predil·luïts produïts en *goat*, *mouse* o *rabbit*.. (veure anticossos disponibles a ANNEX 1: Llistat 1, Llistat 2).
- Construcció de *Tissue Micro Arrays* (diàmetres cilindres de 0,6mm a 2mm).
- Protocol immunohistoquímic de dobles tincions. Detecció de dues proteïnes simultàniament en una mateixa secció de teixit.
- Tècnica d'immunofluorescència.
- Anàlisi d'imatges de seccions senceres o de *Tissue Micro Arrays* mitjançant l'ACIS® III Instrument.

Servei Científic-tècnic d'Immunohistoquímica

- Tincions especials (Histoquímica)
- Tincions histològiques (Hematoxilina-Eosina)
- Hibridació *in situ* mitjançant FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) o CISH (Chromogenic In Situ Hybridization).
- Controls de qualitat.

No es descarta posar a punt altres tècniques que es desitgin realitzar.

9. Sol·licituds de Servei

1. L'investigador Principal o sol·licitant es posarà en contacte amb el coordinador del servei o amb el tècnic superior adscrit.
2. Es facilitarà un pressupost al sol·licitant d'acord amb els serveis requerits.
3. A continuació es formalitzarà la sol·licitud de servei. A la web de l'IRBLleida es pot trobar el document de "Sol·licitud de servei".

10. Tarifes

A la web de l'IRBLleida es poden consultar les tarifes del Servei.

11. ANNEX 1

LLISTAT 1 ANTICOSSOS PRIMARIS	
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)	

Servei Científic-tècnic d'Immunohistoquímica

LLISTAT 2 ANTICOSSOS PRIMARIS		
(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	