



## GUÍA DE EVIDENCIA DE LA UNIDAD DE COMPETENCIA

**“UC0381\_3: Aplicar técnicas de inmu histoquímica, inmunofluorescencia y biología molecular, bajo la supervisión del facultativo”**

## CUALIFICACIÓN PROFESIONAL: ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOLOGÍA

**Código: SAN125\_3**

**NIVEL: 3**



## 1. ESPECIFICACIONES DE EVALUACIÓN DE LA UNIDAD DE COMPETENCIA.

Dado que la evaluación de la competencia profesional se basa en la recopilación de pruebas o evidencias de competencia generadas por cada persona candidata, el referente a considerar para la valoración de estas evidencias de competencia (siempre que éstas no se obtengan por observación del desempeño en el puesto de trabajo) es el indicado en los apartados 1.1 y 1.2 de esta GEC, referente que explicita la competencia recogida en las realizaciones profesionales y criterios de realización de la UC0381\_3: Aplicar técnicas de inmunohistoquímica, inmunofluorescencia y biología molecular, bajo la supervisión del facultativo.

### 1.1. Especificaciones de evaluación relacionadas con las dimensiones de la competencia profesional.

Las especificaciones recogidas en la GEC deben ser tenidas en cuenta por el asesor o asesora para el contraste y mejora del historial formativo de la persona candidata (especificaciones sobre el saber) e historial profesional (especificaciones sobre el saber hacer y saber estar).

Lo explicitado por la persona candidata durante el asesoramiento deberá ser contrastado por el evaluador o evaluadora, empleando para ello el referente de evaluación (UC y los criterios fijados en la correspondiente GEC) y el método que la Comisión de Evaluación determine. Estos métodos pueden ser, entre otros, la observación de la persona candidata en el puesto de trabajo, entrevistas profesionales, pruebas objetivas u otros. En el punto 2.1 de esta Guía se hace referencia a los mismos.

Este apartado comprende las especificaciones del “saber” y el “saber hacer”, que configuran las “competencias técnicas”, así como el “saber estar”, que comprende las “competencias sociales”.

#### a) Especificaciones relacionadas con el “saber hacer”.

La persona candidata demostrará el dominio práctico relacionado con las actividades profesionales que intervienen en la aplicación de técnicas de inmunohistoquímica, inmunofluorescencia y biología molecular, bajo la supervisión del facultativo, y que se indican a continuación:

Nota: A un dígito se indican las actividades profesionales expresadas en las realizaciones profesionales de la unidad de competencia, y a dos dígitos las reflejadas en los criterios de realización.



**1. Preparar las muestras y los reactivos requeridos para la realización de las técnicas de inmunohistoquímica, inmunofluorescencia y biología molecular, según protocolos y cumpliendo la normativa aplicable.**

- 1.1 El área de trabajo se prepara con el material requerido para la técnica (protocolos, material de vidrio, frascos de agua destilada, pinzas, entre otros) evitando interrupciones en la misma.
- 1.2 Los reactivos requeridos para cada técnica se preparan, disponiéndolos en los lugares establecidos dentro del área de trabajo, facilitando su localización.
- 1.3 Las diluciones de anticuerpos, carbohidratos, sondas, tampones y demás reactivos se preparan, para la aplicación de las técnicas previstas.
- 1.4 Las muestras se procesan, siguiendo los protocolos de trabajo correspondientes a cada técnica.

**2. Realizar técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia para microscopía óptica o electrónica solicitadas por el facultativo, siguiendo los protocolos establecidos y cumpliendo la normativa aplicable.**

- 2.1 Los antígenos de las muestras se desenmascaran mediante las técnicas de recuperación antigénica establecidas.
- 2.2 Los controles positivos y negativos, así como controles de calidad, se preparan para las técnicas seleccionadas.
- 2.3 Las micromatrices tisulares con muestras de múltiples tejidos se preparan para su inmunotinción, en caso de solicitarse.
- 2.4 Las técnicas de detección del complejo antígeno-anticuerpo inmunohistoquímicas (PAP, ABC, métodos de polímeros, métodos de amplificación, ELISA, entre otros) o de inmunofluorescencia (directa o indirecta) se aplican a las muestras seleccionadas.
- 2.5 Los kits de marcaje múltiple para inmuno-histoquímica e inmunofluorescencia que permiten la tinción simultánea de una sección tisular con paneles de múltiples anticuerpos distintos se procesan, en caso de solicitarse, siguiendo las instrucciones técnicas.
- 2.6 Las técnicas de inmuno-marcaje ultraestructural con oro coloidal o sales de plata en secciones ultra finas, se aplican para estudios de microscopía electrónica.
- 2.7 Las técnicas automatizadas de inmunotinción, en caso de disponer del equipo correspondiente, se realizan, manteniendo el inmuno-teñidor limpio y operativo.
- 2.8 El resultado de la inmuno-tinción se cuantifica, mediante métodos de análisis de imagen a petición del patólogo.

**3. Realizar técnicas de hibridación in situ (ISH) para determinar la presencia de determinadas secuencias de ADN mediante las técnicas solicitadas por el patólogo siguiendo los protocolos establecidos y cumpliendo la normativa aplicable.**



- 3.1 La sonda complementaria de ADN marcada se prepara en función de la secuencia diana a detectar y de la técnica de visualización empleada.
- 3.2 La muestra objeto de estudio (sangre entera, suero, plasma, esputo, orina, leche materna, líquido cefalorraquídeo y tejidos, entre otros) se prepara, mediante procedimientos de fijación/pretratamiento.
- 3.3 La sonda marcada se aplica sobre la muestra según el protocolo específico de la técnica empleada (con fluorescencia, FISH, M-FISH y SKY-FISH o con cromógeno, CISH, SISH, DUO-SISH y DUO-CISH, entre otras), para su hibridación.
- 3.4 Las estructuras histológicas no marcadas se contrastan con la técnica indicada, según protocolos.
- 3.5 La presencia de sonda en la muestra se detecta con el método indicado (fluorescencia, rodamina-X, autorradiografía, enzimas, entre otros).
- 3.6 Las muestras se visualizan mediante geles, microscopía convencional o de fluorescencia, o mediante imágenes digitales identificando las estructuras marcadas bajo las indicaciones del patólogo.

**4. Realizar las técnicas de amplificación del ADN reacción en cadena de polimerasa (PCR y variantes) en muestras en soporte líquido o sólido solicitadas por el patólogo siguiendo los protocolos establecidos y cumpliendo la normativa aplicable.**

- 4.1 Los ácidos nucleicos se manipulan extrayendo ADN, a partir de los tejidos en fresco, suspensiones celulares y en tejidos fijados en formol, utilizando diferentes tipos de sondas y obteniendo una visualización amplificada de secuencias específicas de dichos ácidos.
- 4.2 Las copias de una secuencia concreta de ADN se sintetizan, mediante la repetición de ciclos de desnaturalización, anillamiento de cebadores y extensión.
- 4.3 La técnica de PCR convencional o en sus modalidades (PCR con transcriptasa inversa RT-PCR, PCR "in situ", multiplex PCR, PCR a tiempo real y PCR Nested) se aplican, en función de las muestras solicitadas, siguiendo protocolos.
- 4.4 El producto amplificado del PCR se detecta mediante electroforesis en geles, hibridación en filtro, polimorfismo y otras técnicas, siguiendo el protocolo establecido.

**5. Realizar técnicas de secuenciación de ácidos nucleicos solicitadas por el patólogo siguiendo los protocolos establecidos y cumpliendo la normativa aplicable.**

- 5.1 Los ácidos nucleicos se secuencian mediante la técnica solicitada (método químico de Maxam y Gilbert, método enzimático Sanger, entre otras), siguiendo protocolos.
- 5.2 Las secuenciaciones automáticas, pirosecuenciaciones y secuenciaciones a gran escala se realizan siguiendo protocolos.
- 5.3 Las secuenciaciones mediante técnicas con micromatrices se realizan siguiendo protocolos, en caso de solicitarlo el patólogo.



**6. Realizar técnicas de citogenética convencional y molecular para el estudio de cariotipos bajo supervisión del facultativo responsable siguiendo los protocolos establecidos y cumpliendo la normativa aplicable.**

- 6.1 El ADN del material biológico se extrae, en fresco o incluido en parafina, a través de diferentes sondas, según las técnicas al uso.
- 6.2 Las técnicas de hibridación in situ fluorescente tipo FISH mediante sondas centroméricas, de pintado o de secuencia única se realizan siguiendo protocolos.
- 6.3 Las técnicas de hibridación genómica comparada (CGH) se realizan, detectando cambios numéricos de secuencias de ADN siguiendo protocolos.
- 6.4 Las técnicas de cariotipado espectral (SKY) para la caracterización citogenética de alteraciones cromosómicas se realizan siguiendo protocolos.
- 6.5 La citogenética convencional, hibridación "in situ" con fluorescencia (FISH), hibridación genómica comparada y cariotipo multicolor (SKY FISH), se realizan, permitiendo al patólogo hacer un análisis citogenético de las células, bacterias y virus.

**7. Realizar técnicas de citometría de flujo para análisis y cuantificación celular bajo supervisión del facultativo responsable siguiendo los protocolos establecidos y cumpliendo la normativa aplicable.**

- 7.1 Las células se marcan con los reactivos correspondientes a cada técnica, siguiendo protocolos.
- 7.2 Las muestras se purifican antes de proceder a su análisis posterior.
- 7.3 El citómetro se programa, aplicando las diferentes técnicas de identificación celular.
- 7.4 Los resultados obtenidos con el citómetro de flujo se recogen, entregándoselos al facultativo responsable para su interpretación.
- 7.5 El equipo se mantiene limpio y operativo para el siguiente uso.

**8. Realizar técnicas de cultivo de tejidos aplicadas sobre muestras tisulares y líquidos biológicos bajo la supervisión del patólogo, siguiendo protocolos y cumpliendo la normativa aplicable.**

- 8.1 Los medios base y los aditivos de los medios de cultivo se seleccionan, controlando su calidad.
- 8.2 Los tampones requeridos para mantener el pH se preparan.
- 8.3 Los cultivos primarios y las líneas celulares se siembran.
- 8.4 Las condiciones de asepsia y esterilidad se verifican, comprobando que se mantienen a lo largo de todo el proceso.



## b) Especificaciones relacionadas con el “saber”.

La persona candidata, en su caso, deberá demostrar que posee los conocimientos técnicos (conceptos y procedimientos) que dan soporte a las actividades profesionales implicadas en las realizaciones profesionales de la **UC0381\_3: Aplicar técnicas de inmunohistoquímica, inmunofluorescencia y biología molecular, bajo la supervisión del facultativo**. Estos conocimientos que aparecen en cursiva y negrita se corresponden con los bloques de contenidos del Módulo Formativo respectivo:

### 1. *Aplicación de técnicas inmunohistoquímicas.*

- Antígenos y anticuerpos: interacción antígeno-anticuerpo.
- Métodos inmuno-histoquímicos.
- Anticuerpos monoclonales y policlonales: marcaje de anticuerpos.
- Clasificación de las técnicas en función del marcador utilizado: fluorocromos, enzimas e iones metálicos.
- Procesamiento histológico y restablecimiento de la inmuno-reactividad tisular: técnicas de recuperación antigénica.
- Procedimientos de las técnicas inmunohistoquímicas y controles.
- Marcadores tumorales.

### 2. *Aplicación de técnicas de extracción de ácidos nucleicos.*

- Estructura y función de los ácidos nucleicos.
- Propiedades físicas relacionadas con las técnicas de biología molecular.
- Endonucleasas de restricción y otras enzimas asociadas a los ácidos nucleicos.
- Mutaciones y polimorfismos.
- Técnicas de extracción de ADN en sangre periférica, biopsias y tejidos.
- Extracción de ARN.

### 3. *Aplicación de técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y electroforesis al estudio de los ácidos nucleicos.*

- Técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y variantes.
- Técnicas de electroforesis en gel.
- Técnicas de visualización de fragmentos e interpretación de resultados.
- Análisis de los productos de PCR.
- Aplicaciones diagnósticas y forenses de las técnicas de PCR.

### 4. *Aplicación de técnicas de hibridación con sonda.*

- Tipos de sonda y tipos de marcaje.
- Procedimiento de hibridación.
- Técnicas de transferencia e hibridación de ácidos nucleicos en soporte sólido.
- Técnicas de hibridación en cromosomas y tejidos.



## **5. Determinación de métodos de clonación y secuenciación del ADN.**

- Clonación: componentes y fases del procedimiento de clonación.
- Bioinformática: análisis de bases de datos de ADN y proteínas.
- Métodos de secuenciación de ADN.
- Aplicación de las técnicas de biología molecular en el diagnóstico clínico.
- Aplicaciones de las técnicas de biología molecular en medicina legal y forense.
- Aplicación de las técnicas de biología molecular a biobancos y bancos de tumores.

### **c) Especificaciones relacionadas con el “saber estar”.**

La persona candidata debe demostrar la posesión de actitudes de comportamiento en el trabajo y formas de actuar e interactuar, según las siguientes especificaciones:

- Mantener el área de trabajo con el grado apropiado de orden y limpieza.
- Demostrar creatividad en el desarrollo del trabajo que realiza.
- Demostrar cierto grado de autonomía en la resolución de contingencias relacionadas con su actividad.
- Proponer alternativas con el objetivo de mejorar resultados.
- Emplear tiempo y esfuerzo en ampliar conocimientos e información complementaria para utilizarlos en su trabajo.
- Aprender nuevos conceptos o procedimientos y aprovechar eficazmente la formación utilizando los conocimientos adquiridos.

## **1.2. Situaciones profesionales de evaluación y criterios de evaluación.**

La situación profesional de evaluación define el contexto profesional en el que se tiene que desarrollar la misma. Esta situación permite al evaluador o evaluadora obtener evidencias de competencia de la persona candidata que incluyen, básicamente, todo el contexto profesional de la Unidad de Competencia implicada.

Así mismo, la situación profesional de evaluación se sustenta en actividades profesionales que permiten inferir competencia profesional respecto a la práctica totalidad de realizaciones profesionales de la Unidad de Competencia.

Por último, indicar que la situación profesional de evaluación define un contexto abierto y flexible, que puede ser completado por las CC.AA., cuando éstas decidan aplicar una prueba profesional a las personas candidatas.

En el caso de la “UC0381\_3: Aplicar técnicas de inmunohistoquímica, inmunofluorescencia y biología molecular, bajo la supervisión del facultativo”, se tienen tres situaciones profesionales de evaluación y se concretan en los siguientes términos:



### 1.2.1. Situación profesional de evaluación número 1.

#### a) Descripción de la situación profesional de evaluación.

En esta situación profesional, la persona candidata demostrará la competencia requerida para preparar diversos controles que aseguren la especificidad de la tinción inmunohistoquímica. Esta situación comprenderá al menos las siguientes actividades:

1. Bloqueo de la actividad enzimática endógena para evitar uniones inespecíficas.
2. Bloqueo de la tinción de fondo inespecífica.
3. Elaboración de un control negativo.

#### **Condiciones adicionales:**

- Se proporcionará a la persona candidata portaobjetos con preparaciones ya dispuestas y resto de materiales y reactivos requeridos para el desarrollo del supuesto planteado.

#### b) Criterios de evaluación asociados a la situación de evaluación número 1.

Con el objeto de optimizar la validez y fiabilidad del resultado de la evaluación, esta Guía incluye unos criterios de evaluación integrados y, por tanto, reducidos en número. Cada criterio de evaluación está formado por un criterio de mérito significativo, así como por los indicadores y escalas de desempeño competente asociados a cada uno de dichos criterios.

En la situación profesional de evaluación número 1, los criterios se especifican en el cuadro siguiente:

<b>Criterios de mérito</b>	<b>Indicadores, escalas y umbrales de desempeño competente</b>
<i>Eficacia en el bloqueo de la actividad enzimática endógena para evitar falsos positivos.</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Selección de portas específicos para las preparaciones objeto de estudio.</li><li>- Recuperación antigénica.</li><li>- Tratamiento previo de las preparaciones con un exceso del sustrato del enzima en cuestión.</li></ul> <p><i>El umbral de desempeño competente requiere el</i></p>



	<i>cumplimiento total de este criterio de mérito.</i>
<i>Eficacia en el bloqueo de la tinción de fondo inespecífica.</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Selección de los portas específicos para las preparaciones objeto de estudio y recuperación antigénica.</li><li>- Preincubación con otros anticuerpos.</li><li>- Preincubación del anticuerpo con la molécula transportadora.</li><li>- Preincubación con suero normal no inmune y de una especie distinta al anticuerpo primario.</li></ul> <p><i>El umbral de desempeño competente está explicitado en la escala A.</i></p>
<i>Rigor en la elaboración de un control negativo.</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Selección de los portas específicos para las preparaciones objeto de estudio.</li><li>- Realización de la recuperación antigénica.</li><li>- Realización de la técnica inmunohistoquímica (IHQ) omitiendo el anticuerpo primario de la técnica IHQ a aplicar.</li></ul> <p><i>El umbral de desempeño competente requiere el cumplimiento total de este criterio de mérito.</i></p>
<i>Cumplimiento de la normativa aplicable referente a prevención de riesgos laborales, entre otras.</i>	<p><i>El umbral de desempeño competente requiere el cumplimiento total de este criterio de mérito.</i></p>
<i>Cumplimiento del tiempo establecido en función del empleado por un profesional.</i>	<p><i>El umbral de desempeño competente, permite una desviación del 15% en el tiempo establecido.</i></p>

## Escala A

5	<p><i>El bloqueo de la actividad enzimática endógena para evitar falsos positivos, se realiza seleccionando los portas específicos, asegurando la adhesión de la muestra, efectuando la recuperación antigénica en microondas, la cocción a presión o baño de agua, reduciendo la tinción inespecífica preparando portas con todos los tratamientos que la eviten, haciendo preincubaciones con otros anticuerpos, preincubando con suero normal no inmune y de una especie distinta al antisuero primario, usando el antisuero primario en altas diluciones y empleando tampones de mayor concentración salina o añadiendo al tampón detergentes.</i></p>
4	<p><b><i>El bloqueo de la actividad enzimática endógena para evitar falsos positivos, se realiza seleccionando los portas específicos, asegurando la adhesión de la muestra, efectuando la recuperación antigénica en microondas, la cocción a presión o baño de agua, reduciendo la tinción inespecífica preparando portas con todos los tratamientos que la eviten, haciendo preincubaciones con otros anticuerpos, preincubando con suero normal no inmune y de una especie distinta al antisuero primario, usando el antisuero primario en altas diluciones pero empleando tampones sin detergentes con lo que la penetración es menor.</i></b></p>

3	<p><i>El bloqueo de la actividad enzimática endógena para evitar falsos positivos, se realiza seleccionando los portas específicos, asegurando la adhesión de la muestra, llevando a cabo la recuperación antigénica en microondas, la cocción a presión o baño de agua, no reduciendo la tinción inespecífica preparando portas con todos los tratamientos que la eviten, haciendo preincubaciones con otros anticuerpos, preincubando con suero normal no inmune y de una especie distinta al antisuero primario y usando el antisuero primario en altas diluciones empleando tampones sin detergentes con lo que la penetración es menor.</i></p>
2	<p><i>El bloqueo de la actividad enzimática endógena para evitar falsos positivos, se realiza no seleccionando los portas específicos, presentando las preparaciones problemas de adhesividad, no reduciendo la tinción inespecífica, preparando diluciones de antisueros sin tener en cuenta la especie animal.</i></p>
1	<p><i>El bloqueo de la actividad enzimática endógena para evitar falsos positivos, se realiza no seleccionando los portas específicos, presentando las preparaciones serios problemas de adhesividad, despegándose en el procesado, preparando diluciones de antisueros incorrectamente, no sabiendo calcular las proporciones, estando el conjunto sucio y careciendo de la calidad requerida.</i></p>

Nota: el umbral de desempeño competente corresponde a la descripción establecida en el número 4 de la escala.

### 1.2.2. Situación profesional de evaluación número 2.

#### a) Descripción de la situación profesional de evaluación.

En esta situación profesional, la persona candidata demostrará la competencia requerida para la cuantificación de DNA a partir de DNA extraído previamente y en disolución con TE (tris-EDTA), siguiendo los protocolos establecidos. Esta situación comprenderá al menos las siguientes actividades:

1. Disponer el material preciso para los procedimientos a realizar y hacer las diluciones requeridas.
2. Hacer las lecturas en el espectrofotómetro, tras las que se efectuarán los cálculos correspondientes.

#### **Condiciones adicionales:**

- Se proporcionarán a la persona candidata disoluciones de DNA extraído de distintas muestras de tejidos, así como espectrofotómetro y resto de materiales y reactivos requeridos para la realización del supuesto.

#### b) Criterios de evaluación asociados a la situación de evaluación número 2.

En la situación profesional de evaluación número 2, los criterios de evaluación se especifican en el cuadro siguiente:



<b>Criterios de mérito</b>	<b>Indicadores, escalas y umbrales de desempeño competente</b>
<i>Exactitud en la cuantificación de DNA a partir de DNA extraído previamente y en disolución con TE (tris-EDTA).</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Selección de materiales y reactivos precisos.</li><li>- Dilución de las muestras de ADN para lectura en espectrofotómetro.</li><li>- Cuantificación del ADN mediante espectrofotometría, siguiendo los protocolos establecidos.</li><li>- Lectura de las densidades ópticas (D.O.) a distintas longitudes de onda.</li><li>- Cálculo de la cantidad de ADN en la muestra (mcg/ml) a partir de las D.O.</li></ul> <p><i>El umbral de desempeño competente está explicitado en la escala B.</i></p>
<i>Cumplimiento de la normativa aplicable referente a prevención de riesgos laborales, entre otras.</i>	<p><i>El umbral de desempeño competente requiere el cumplimiento total de este criterio de mérito.</i></p>
<i>Cumplimiento del tiempo establecido en función del empleado por un profesional.</i>	<p><i>El umbral de desempeño competente, permite una desviación del 15% en el tiempo establecido.</i></p>

## Escala B

5	<p><i>La cuantificación de DNA a partir de DNA extraído y en disolución con TE (tris-EDTA) se efectúa seleccionando materiales y utillaje preciso, realizando la dilución 1:50 o 1:100 en agua libre de DNAsas, con las precauciones requeridas para evitar la contaminación de la muestra, disponiendo el espectrofotómetro para lectura de densidades ópticas (D.O.) a 320, 260 y 280 nm frente a un blanco de agua en cubeta de cuarzo, obteniendo valores para la relación de D.O.260/280 y su inversa 280/260, realizando los cálculos considerando que la unidad de D.O. a 260nm corresponde a 50mcg/ml de DNA.</i></p>
4	<p><b><i>La cuantificación de DNA a partir de DNA extraído y en disolución con TE (tris-EDTA) se efectúa seleccionando materiales y utillaje preciso, realizando la dilución 1:50 o 1:100 en agua libre de DNAsas, con las precauciones requeridas para evitar la contaminación de la muestra, disponiendo el espectrofotómetro para lectura de densidades ópticas (D.O.) a 320, 260 y 280 nm frente a un blanco de agua en cubeta de cuarzo, obteniendo valores para la relación de D.O.260/280 y su inversa 280/260, pero no considerando que la unidad de D.O. a 260nm corresponde a 50mcg/ml de DNA.</i></b></p>
3	<p><i>La cuantificación de DNA a partir de DNA extraído y en disolución con TE (tris-EDTA) se efectúa olvidando seleccionar materiales y utillaje preciso, realizando incorrectamente la dilución en agua libre destilada, no tomando las precauciones requeridas para evitar la contaminación de la muestra, disponiendo el espectrofotómetro para lectura de densidades ópticas (D.O.), no seleccionando las <math>\lambda</math> (longitudes de onda) requeridas, no preparando el blanco, no obteniendo valores correspondientes a 260/280 280/260, realizando los cálculos incorrectamente y no considerando que la unidad de D.O. a 260nm corresponde a 50mcg/ml de DNA.</i></p>



2	<p><i>La cuantificación de DNA a partir de DNA extraído y en disolución con TE (tris-EDTA) se efectúa olvidando seleccionar materiales y utillaje imprescindibles para la dilución, realizando la dilución de manera incorrecta y en agua corriente, no tomando las precauciones requeridas para evitar la contaminación de la muestra, disponiendo el espectrofotómetro para lectura de densidades ópticas (D.O.), no seleccionando las <math>\lambda</math> (longitudes de onda) requeridas y no realizando los cálculos para obtener la cantidad de DNA de la muestra.</i></p>
1	<p><i>La cuantificación de DNA a partir de DNA extraído y en disolución con TE (tris-EDTA) se efectúa olvidando seleccionar materiales y utillaje imprescindibles para la dilución, no sabiendo diluir la muestra ni manejar el espectrofotómetro y no tomando las precauciones requeridas para evitar la contaminación de la muestra.</i></p>

Nota: el umbral de desempeño competente corresponde a la descripción establecida en el número 4 de la escala.

### 1.2.3. Situación profesional de evaluación número 3.

#### a) Descripción de la situación profesional de evaluación.

En esta situación profesional, la persona candidata demostrará la competencia requerida para realizar la disgregación de un tejido fresco mediante tripsinización, así como para determinar la viabilidad celular. Esta situación comprenderá al menos las siguientes actividades:

1. Disponer el material preciso para los procedimientos a realizar.
2. Seccionar el tejido fresco en fragmentos de tamaño adecuado.
3. Preparar la disolución de tripsina más adecuada y realizar la disgregación.
4. Determinar el número de células viables.

#### **Condiciones adicionales:**

- Se proporcionará a la persona candidata un fragmento de tejido fresco así como los materiales y reactivos requeridos para la realización del supuesto.

#### b) Criterios de evaluación asociados a la situación de evaluación número 3.

En la situación profesional de evaluación número 3, los criterios de evaluación se especifican en el cuadro siguiente:



<b>Criterios de mérito</b>	<b>Indicadores, escalas y umbrales de desempeño competente</b>
<i>Eficacia en la disposición del material preciso para los procedimientos a realizar.</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Selección de materiales y reactivos requeridos para los procedimientos a realizar.</li></ul> <p><i>El umbral de desempeño competente requiere el cumplimiento total de este criterio de mérito.</i></p>
<i>Calidad en la sección del tejido fresco en fragmentos del tamaño requerido.</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Obtención de fragmentos tisulares del menor tamaño posible usando bisturí.</li></ul> <p><i>El umbral de desempeño competente requiere el cumplimiento total de este criterio de mérito.</i></p>
<i>Rigor en la preparación de la disolución requerida de tripsina para efectuar la disgregación.</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Selección de los materiales requeridos</li><li>- Preparación de la disolución de tripsina.</li><li>- Incubación de los fragmentos tisulares con la solución de tripsinización.</li><li>- Chequeo de la disociación celular controlando al microscopio invertido.</li></ul> <p><i>El umbral de desempeño competente requiere el cumplimiento total de este criterio de mérito.</i></p>
<i>Exactitud en la determinación del número de células viables.</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Preparación del hemocitómetro.</li><li>- Disposición de una muestra de suspensión celular en la cámara de recuento.</li><li>- Recuento de células al microscopio en un área determinada.</li><li>- Cálculo de número de células en 1 mililitro.</li></ul> <p><i>El umbral de desempeño competente está explicitado en la escala C.</i></p>
<i>Cumplimiento de la normativa aplicable referente a prevención de riesgos laborales, entre otras.</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Control de las condiciones de esterilidad y seguridad biológica en las que se va a desarrollar el procedimiento.</li></ul> <p><i>El umbral de desempeño competente requiere el cumplimiento total de este criterio de mérito.</i></p>
<i>Cumplimiento del tiempo establecido en función del empleado por un profesional.</i>	<p><i>El umbral de desempeño competente, permite una desviación del 15% en el tiempo establecido.</i></p>

## Escala C

5	<p><i>La determinación del número de células viables se efectúa limpiando el porta y el cubre de la cámara de Neubauer, colocando el cubre de la forma requerida, disponiendo con una pipeta la muestra obtenida mezclando a partes iguales suspensión celular y colorante vital, , asegurando la distribución uniforme en la cámara, enfocando el área microscópica determinada contando el número de células viables en esa área y realizando los cálculos para obtener el número de células por mililitro, teniendo en cuenta que las células vivas no se tiñen.</i></p>
4	<p><b><i>La determinación del número de células viables se efectúa limpiando el porta y el cubre de la cámara de Neubauer, colocando el cubre de la forma requerida, disponiendo con una pipeta la muestra obtenida mezclando a partes iguales suspensión celular y colorante vital, no asegurando la distribución uniforme en la cámara, (la distribución de la suspensión no es completa en toda el área de la cámara pero cubre la cuadrícula), enfocando el área microscópica determinada contando el número de células viables en esa área y realizando los cálculos para obtener el número de células por mililitro, teniendo en cuenta que las células vivas no se tiñen.</i></b></p>
3	<p><i>La determinación del número de células viables se efectúa con defectos en la limpieza de porta y cubre de la cámara de Neubauer, colocando el cubre de la forma requerida, disponiendo con una pipeta la muestra obtenida mezclando a partes iguales suspensión celular y colorante vital, no asegurando la distribución uniforme en la cámara, no quedando la cámara bien cargada, enfocando el área determinada, realizando el recuento en algunas zonas de la cuadrícula y efectuando los cálculos con fallos en las operaciones, sin tener en cuenta que las células vivas no se tiñen</i></p>
2	<p><i>La determinación del número de células viables se efectúa con defectos muy evidentes en la limpieza de porta y cubre de la cámara de Neubauer (pelusas), colocando mal el cubre que posteriormente se desplaza arrastrando la suspensión fuera de la cámara , disponiendo con una pipeta la muestra obtenida mezclando a partes iguales suspensión celular y colorante vital, no asegurando la distribución uniforme en la cámara, no quedando la cámara bien cargada, enfocando el área determinada, realizando el recuento en algunas zonas de la cuadrícula, efectuando los cálculos con errores importantes y no diferenciando células vivas de muertas.</i></p>
1	<p><i>La determinación del número de células viables se efectúa existiendo suciedad, restos de pelusas y material biológico, lo que además de comprometer la seguridad del candidato, imposibilita totalmente el recuento celular y el cálculo de la viabilidad celular.</i></p>

Nota: el umbral de desempeño competente corresponde a la descripción establecida en el número 4 de la escala.

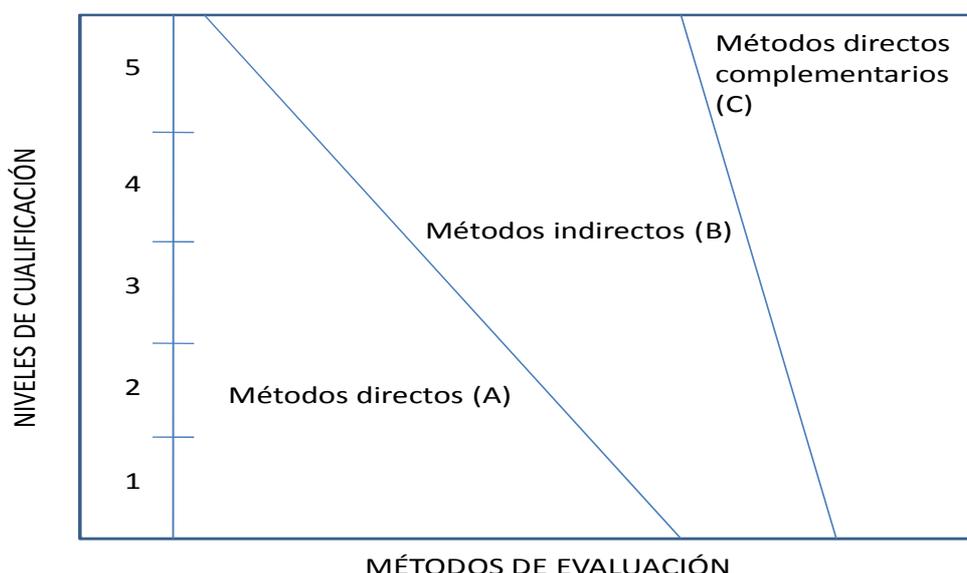
## 2. MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA UNIDAD DE COMPETENCIA Y ORIENTACIONES PARA LAS COMISIONES DE EVALUACIÓN Y EVALUADORES/AS.

La selección de métodos de evaluación que deben realizar las Comisiones de Evaluación será específica para cada persona candidata, y dependerá fundamentalmente de tres factores: nivel de cualificación de la unidad de competencia, características personales de la persona candidata y evidencias de competencia indirectas aportadas por la misma.

## 2.1. Métodos de evaluación y criterios generales de elección.

Los métodos que pueden ser empleados en la evaluación de la competencia profesional adquirida por las personas a través de la experiencia laboral, y vías no formales de formación son los que a continuación se relacionan:

- a) **Métodos indirectos:** Consisten en la valoración del historial profesional y formativo de la persona candidata; así como en la valoración de muestras sobre productos de su trabajo o de proyectos realizados. Proporcionan evidencias de competencia inferidas de actividades realizadas en el pasado.
- b) **Métodos directos:** Proporcionan evidencias de competencia en el mismo momento de realizar la evaluación. Los métodos directos susceptibles de ser utilizados son los siguientes:
- Observación en el puesto de trabajo (A).
  - Observación de una situación de trabajo simulada (A).
  - Pruebas de competencia profesional basadas en las situaciones profesionales de evaluación (C).
  - Pruebas de habilidades (C).
  - Ejecución de un proyecto (C).
  - Entrevista profesional estructurada (C).
  - Preguntas orales (C).
  - Pruebas objetivas (C).



Fuente: Leonard Mertens (elaboración propia)



Como puede observarse en la figura anterior, en un proceso de evaluación que debe ser integrado (“holístico”), uno de los criterios de elección depende del nivel de cualificación de la UC. Como puede observarse, a menor nivel, deben priorizarse los métodos de observación en una situación de trabajo real o simulada, mientras que, a niveles superiores, debe priorizarse la utilización de métodos indirectos acompañados de entrevista profesional estructurada.

La consideración de las características personales de la persona candidata, debe basarse en el principio de equidad. Así, por este principio, debe priorizarse la selección de aquellos métodos de carácter complementario que faciliten la generación de evidencias válidas. En este orden de ideas, nunca debe aplicarse una prueba de conocimientos de carácter escrito a un candidato de bajo nivel cultural al que se le aprecien dificultades de expresión escrita. Una conversación profesional que genere confianza sería el método adecuado.

Por último, indicar que las evidencias de competencia indirectas debidamente contrastadas y valoradas, pueden incidir decisivamente, en cada caso particular, en la elección de otros métodos de evaluación para obtener evidencias de competencia complementarias.

## **2.2. Orientaciones para las Comisiones de Evaluación y Evaluadores.**

- a) Cuando la persona candidata justifique sólo formación no formal y no tenga experiencia en la aplicación de técnicas de inmunohistoquímica, inmunofluorescencia y biología molecular, bajo la supervisión del facultativo, se le someterá, al menos, a una prueba profesional de evaluación y a una entrevista profesional estructurada sobre la dimensión relacionada con el “saber” y “saber estar” de la competencia profesional.
- b) En la fase de evaluación siempre se deben contrastar las evidencias indirectas de competencia presentadas por la persona candidata. Deberá tomarse como referente la UC, el contexto que incluye la situación profesional de evaluación, y las especificaciones de los “saberes” incluidos en las dimensiones de la competencia. Se recomienda utilizar una entrevista profesional estructurada.
- c) Si se evalúa a la persona candidata a través de la observación en el puesto de trabajo, se recomienda tomar como referente los logros expresados en las realizaciones profesionales considerando el contexto expresado en la situación profesional de evaluación.



d) Por la importancia del “saber estar” recogido en esta Guía, en la fase de evaluación se debe comprobar la competencia de la persona candidata en esta dimensión particular, en los aspectos considerados.

e) Si se utiliza la entrevista profesional para comprobar lo explicitado por la persona candidata se tendrán en cuenta las siguientes recomendaciones:

Se estructurará la entrevista a partir del análisis previo de toda la documentación presentada por la persona candidata, así como de la información obtenida en la fase de asesoramiento y/o en otras fases de la evaluación.

La entrevista se concretará en una lista de cuestiones claras, que generen respuestas concretas, sobre aspectos que han de ser explorados a lo largo de la misma, teniendo en cuenta el referente de evaluación y el perfil de la persona candidata. Se debe evitar la improvisación.

El evaluador o evaluadora debe formular solamente una pregunta a la vez dando el tiempo suficiente de respuesta, poniendo la máxima atención y neutralidad en el contenido de las mismas, sin enjuiciarlas en ningún momento. Se deben evitar las interrupciones y dejar que la persona candidata se comunique con confianza, respetando su propio ritmo y solventando sus posibles dificultades de expresión.

Para el desarrollo de la entrevista se recomienda disponer de un lugar que respete la privacidad. Se recomienda que la entrevista sea grabada mediante un sistema de audio vídeo previa autorización de la persona implicada, cumpliéndose la ley de protección de datos.

f) Esta Unidad de Competencia es de nivel 3 y sus competencias tienen componentes manuales, cognitivos y actitudinales. Por sus características, y dado que, en este caso, tienen mayor relevancia el componente de destrezas manuales, en función del método de evaluación utilizado, se recomienda que en la comprobación de lo explicitado por la persona candidata se complemente con una prueba práctica que tenga como referente las actividades de la situación profesional de evaluación. Esta se planteará sobre un contexto reducido que permita optimizar la observación de competencias, minimizando los medios materiales y el tiempo necesario para su realización, cumpliéndose las normas de seguridad, prevención de riesgos laborales y medioambientales requeridas.



g) Si se aplica una prueba práctica, se recomienda establecer un tiempo para su realización, considerando el que emplearía un/a profesional competente, para que el evaluado trabaje en condiciones de estrés profesional. Así mismo, se planteará una o más contingencias de entre las siguientes:

- Tejidos que precisen la recuperación antigénica.
- Suero de una especie animal inapropiada para efectuar la técnica solicitada.
- Sueros, buffers y detergentes de concentraciones y/o composición inadecuadas.
- DNA extraído de distintos tejidos, a distintas concentraciones y niveles de pureza (el candidato/a demostrará la pericia en la ejecución de los cálculos requeridos).
- Materiales y recipientes inadecuados o dañados.
- Portaobjetos y cámaras hemocitométricas con daños (melladuras, rayaduras, suciedad) que los hagan inservibles.
- Soluciones tampón turbias, medios de cultivo con grumos, y colorantes sin filtrar (el candidato/a tendrá que resolver las contingencias).
- Distintas condiciones de observación microscópica (objetivos dañados o sucios).
- Soluciones de trabajo contaminadas.

h) En la situación profesional de evaluación número 1 se tendrán en cuenta las siguientes recomendaciones:

- Usar controles positivos para comprobar la realización en la forma requerida de la técnica inmunohistoquímica (IHQ).
- En todas las técnicas de IHQ planteadas efectuar control de fijación de la muestra.
- Para los cortes de IHQ utilizar cristales con carga positiva para la correcta adhesión.