

Estándar de competencias profesionales

Aplicar técnicas de inmunohistoquímica, inmunofluorescencia y biología molecular, bajo la supervisión del facultativo

Familia Profesional	Sanidad
Nivel	3
Código	ECP0381_3
Estado	BOE
Publicación	Orden PRE/2720/2015

Competencia profesional

Elementos de la competencia

- EC1** 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.
- IC1.1** 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.
 - IC1.2** Los reactivos requeridos para cada técnica se preparan, disponiéndolos en los lugares establecidos dentro del área de trabajo, facilitando su localización.
 - IC1.3** Las diluciones de anticuerpos, carbohidratos, sondas, tampones y demás reactivos se preparan, para la aplicación de las técnicas previstas.
 - IC1.4** Las muestras se procesan, siguiendo los protocolos de trabajo correspondientes a cada técnica.
- EC2** Realizar técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia para microscopía óptica o electrónica solicitadas por el facultativo, siguiendo los protocolos establecidos y cumpliendo la normativa aplicable.

- IC2.1** Los antígenos de las muestras se desenmascaran mediante las técnicas de recuperación antigénica establecidas.
- IC2.2** Los controles positivos y negativos, así como controles de calidad, se preparan para las técnicas seleccionadas.
- IC2.3** Las micromatrices tisulares con muestras de múltiples tejidos se preparan para su inmunotinción, en caso de solicitarse.
- IC2.4** Las técnicas de detección del complejo antígeno-anticuerpo inmuno-histoquímicas (PAP, ABC, métodos de polímeros, métodos de amplificación, ELISA, entre otros) o de inmunofluorescencia (directa o indirecta) se aplican a las muestras seleccionadas.
- IC2.5** Los kits de marcaje múltiple para inmuno-histoquímica e inmuno-fluorescencia 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.
- IC2.6** Las técnicas de inmuno-marcaje ultraestructural con oro coloidal o sales de plata en secciones ultra finas, se aplican para estudios de microscopía electrónica.
- IC2.7** Las técnicas automatizadas de inmunotinción, en caso de disponer del equipo correspondiente, se realizan, manteniendo el inmuno-teñidor limpio y operativo.
- IC2.8** El resultado de la inmuno-tinción se cuantifica, mediante métodos de análisis de imagen a petición del patólogo.
- EC3** 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.
- IC3.1** La sonda complementaria de ADN marcada se prepara en función de la secuencia diana a detectar y de la técnica de visualización empleada.
- IC3.2** 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.
- IC3.3** 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.
- IC3.4** Las estructuras histológicas no marcadas se contrastan con la técnica indicada, según protocolos.
- IC3.5** La presencia de sonda en la muestra se detecta con el método indicado (fluorescencia, rodamina-X, autorradiografía, enzimas, entre otros).

IC3.6 Las muestras se visualizan mediante geles, microscopia convencional o de fluorescencia, o mediante imágenes digitales identificando las estructuras marcadas bajo las indicaciones del patólogo.

EC4 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.

IC4.1 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.

IC4.2 Las copias de una secuencia concreta de ADN se sintetizan, mediante la repetición de ciclos de desnaturalización, anillamiento de cebadores y extensión.

IC4.3 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.

IC4.4 El producto amplificado del PCR se detecta mediante electroforesis en geles, hibridación en filtro, polimorfismo y otras técnicas, siguiendo el protocolo establecido.

EC5 Realizar técnicas de secuenciación de ácidos nucleicos solicitadas por el patólogo siguiendo los protocolos establecidos y cumpliendo la normativa aplicable.

IC5.1 Los ácidos nucleicos se secuencian mediante la técnica solicitada (método químico de Maxam y Gilbert, método enzimático Sanger, entre otras), siguiendo protocolos.

IC5.2 Las secuenciaciones automáticas, pirosecuenciaciones y secuenciaciones a gran escala se realizan siguiendo protocolos.

IC5.3 Las secuenciaciones mediante técnicas con micromatrices se realizan siguiendo protocolos, en caso de solicitarlo el patólogo.

EC6 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.

IC6.1 El ADN del material biológico se extrae, en fresco o incluido en parafina, a través de diferentes sondas, según las técnicas al uso.

IC6.2 Las técnicas de hibridación "in situ" fluorescente tipo FISH mediante sondas centroméricas, de pintado o de secuencia única se realizan siguiendo protocolos.

- IC6.3** Las técnicas de hibridación genómica comparada (CGH) se realizan, detectando cambios numéricos de secuencias de ADN siguiendo protocolos.
- IC6.4** Las técnicas de cariotipado espectral (SKY) para la caracterización citogenética de alteraciones cromosómicas se realizan siguiendo protocolos.
- IC6.5** 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.
- EC7** 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.
- IC7.1** Las células se marcan con los reactivos correspondientes a cada técnica, siguiendo protocolos.
- IC7.2** Las muestras se purifican antes de proceder a su análisis posterior.
- IC7.3** El citómetro se programa, aplicando las diferentes técnicas de identificación celular.
- IC7.4** Los resultados obtenidos con el citómetro de flujo se recogen, entregándoselos al facultativo responsable para su interpretación.
- IC7.5** El equipo se mantiene limpio y operativo para el siguiente uso.
- EC8** 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.
- IC8.1** Los medios base y los aditivos de los medios de cultivo se seleccionan, controlando su calidad.
- IC8.2** Los tampones requeridos para mantener el pH se preparan, según protocolos establecidos.
- IC8.3** Los cultivos primarios y las líneas celulares se siembran, según protocolos establecidos.
- IC8.4** Las condiciones de asepsia y esterilidad se verifican, comprobando que se mantienen a lo largo de todo el proceso.

Contexto profesional

Ámbito profesional

Sectores productivos

Ocupaciones y puestos de trabajo relevantes

Medios de producción

Ficheros de piezas, de preparaciones, de fotografías y sus archivos correspondientes. Almacén del laboratorio. Instrumental fungible. Frigoríficos. Estufa. Olla a presión. Microscopio óptico. Fotomicroscopio. Microscopio de inmunofluorescencia. Termociclador. Cubeta de electroforesis. Transiluminador. Centrífuga. Cámara Polaroid. Micropipetas. Puntas de pipeta con filtro. Vortex. Agitador. Fotocolorímetro. Balanzas de precisión. Sondas específicas. Procesador de tinción automático. Placa termostática. Kits de reactivos específicos para determinación de marcadores inmunológicos de diversos tipos. Cebadores, DNA molde, DNA polimerasa, nucleótidos y tampones. Campana de flujo laminar. Baño termostatzado. Incubador de CO₂. Autoclave. Congelador. Microscopio invertido. Microcentrífuga. Dispensador de nitrógeno líquido.

Información utilizada o generada

Libro de registro. Procedimientos normalizados en las técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia: métodos de fijación, deshidratación, dilución, desnaturalización, hibridación y síntesis. Técnicas de extracción, purificación y manipulación de ácidos nucleicos. Técnicas de amplificación (PCR y variantes). Técnicas de hibridación (citogenética molecular). Métodos de visualización de anticuerpos. Procedimientos de tinción, montaje y aclarados de preparaciones. Procedimientos de elaboración de preparaciones para inmunohistoquímica, inmunofluorescencia, PCR (y variantes) y citogenética. Hibridación. Métodos normalizados de observación microscópica óptica e inmunofluorescente. Protocolos de limpieza y esterilización de materiales y equipos. Especificaciones informativas en los kits, cebadores, DNA molde, nucleótidos y tampones de los reactivos utilizados. Historia o ficha clínicas. Ficheros. Listados y hojas de trabajo. Normas de mantenimiento de los equipos. Bibliografía especializada. Normativa aplicable sobre control de residuos, seguridad, control de calidad, entre otras.