

**CARTERA DE SERVICIOS  
BIOBANCO  
NAVARRABIOMED  
2021**



## **INTRODUCCIÓN**

El Biobanco Navarrabiomed, como plataforma de servicio de la Fundación Miguel Servet, gestiona las muestras biológicas humanas con fines de investigación biomédica y proporciona soporte científico y técnico a la comunidad científica a través de diversos servicios. El Biobanco desarrolla su actividad siguiendo la norma de calidad UNE-EN-ISO 9001:2008, habiendo conseguido esta certificación en junio de 2012 y renovándola anualmente.

A continuación se presenta una descripción detallada de cada servicio, proporcionando así un mayor conocimiento a los investigadores y empresas de los servicios ofrecidos por el biobanco.

## **CONTACTO**

Para solicitar los servicios del Biobanco Navarrabiomed, llamar al teléfono 848 428629 (Horario de atención: de lunes a viernes de 8:00 a 15:00 h) o en la siguiente dirección de correo electrónico: [biobanco.navarrabiomed@navarra.es](mailto:biobanco.navarrabiomed@navarra.es).

## ÍNDICE

CESIÓN DE MUESTRAS .....	5
GESTIÓN DE COLECCIONES .....	5
Recogida, procesamiento y conservación de muestras.....	5
Custodia de muestras.....	6
Custodia de datos.....	6
Preparación de muestras para envío .....	6
ASESORAMIENTO CIENTÍFICO-TÉCNICO .....	6
Elaboración y revisión de protocolos de recogida y procesamiento de muestras .....	6
Participación, asesoramiento y soporte en proyectos de investigación.....	6
Asesoramiento en el diseño de experimentos con muestras humanas .....	7
Asesoramiento en el diseño e interpretación de estudios inmunohistoquímicos .....	7
Asesoramiento en puesta a punto de técnicas y puesta en marcha de colecciones.....	7
Formación de personal.....	7
ASESORAMIENTO ÉTICO-LEGAL .....	7
Revisión de proyectos de investigación con muestras .....	7
Elaboración y revisión de acuerdos de transferencia de muestras .....	8
Elaboración y revisión de modelos de hoja de información y consentimiento informado .....	8
PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.....	8
TÉCNICAS CELULARES.....	8
Aislamiento de células mononucleares de sangre periférica (CMSP).....	8
TÉCNICAS MOLECULARES.....	9
Cuantificación de ácidos nucleicos por Nanodrop.....	9
Extracción de ADN (a partir de sangre total, Buffy coat y CMSP) .....	9
AISLAMIENTO DE COMPONENTES SANGUÍNEOS.....	10
Aislamiento de plasma .....	11
Aislamiento de suero.....	11
Aislamiento de Buffy coat .....	11
RECOGIDA, PROCESAMIENTO Y ALMACENAJE DE MUESTRAS DE TEJIDO.....	12
Congelación de tejido en criomolde/OCT .....	12
Congelación de tejido en fresco.....	12
Procesamiento de tejidos y elaboración de bloques de parafina .....	13
HISTOLOGÍA: PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS Y TINCIÓN.....	14
Captura de imágenes histológicas.....	14

Cortes histológicos a partir de muestras incluidas en OCT .....	14
Cortes histológicos a partir de muestras incluidas en parafina .....	15
Tinción de muestras .....	15
Inmunohistoquímicas.....	16
Inmunofluorescencia.....	16
OBTENCIÓN, PROCESAMIENTO Y CONSERVACIÓN DE TEJIDO NEUROLÓGICO .....	17
Captura de imágenes microscópicas y macroscópicas .....	17
Despistaje priónico a través de inmunohistoquímica.....	17
Histoquímica e inmunohistoquímica de tejido neurológico .....	18
Procesamiento de líquido cefalorraquídeo (LCR) .....	18
Extracción de ADN de LCR.....	18
OTROS SERVICIOS: a petición.....	19

## **CESIÓN DE MUESTRAS**

La cesión de muestras es la actividad propia de los biobancos. El Biobanco Navarrabiomed dispone de circuitos de recogida activa de muestras de las siguientes colecciones:

- Tumores
- Tejidos neurológicos
- Diabetes mellitus tipo 1
- Insuficiencia cardíaca
- Líquido cefalorraquídeo
- Nefrología
- Oncología
- Asma
- Pancreatitis aguda
- Pancreatitis crónica
- Control: donantes sanos
- Tromboteca
- Tumores biliopancreáticos

Además, tenemos la capacidad de iniciar nuevas colecciones prospectivas de muestras y empezar la recogida de las muestras correspondientes, en función de las necesidades del cliente.

Para la solicitud de muestras, el investigador deberá enviarnos el formulario de solicitud según el modelo normalizado acompañado de una memoria del proyecto, el CV del Investigador Principal, el informe favorable del Comité de ética de la investigación para la realización del proyecto y la entidad financiadora del mismo, en caso de disponer de ella. La solicitud, junto con la documentación, será evaluada por los comités científico y ético a los que se encuentra adscrito el Biobanco.

Una vez aprobada la solicitud, se firmará un acuerdo de cesión de muestras conforme a la legislación vigente.

## **GESTIÓN DE COLECCIONES**

### **Recogida, procesamiento y conservación de muestras**

El Biobanco Navarrabiomed ofrece el servicio de recogida y procesamiento de muestras. Los distintos tipos de procesamientos que se llevan a cabo aparecen en el bloque de "Procesamiento de muestras". Una vez procesadas, el biobanco tiene la capacidad de almacenar las muestras a temperatura ambiente, 4°C, -20°C, -80°C y en nitrógeno líquido, llevando un control del registro de temperaturas.

## **Custodia de muestras**

El Biobanco Navarrabiomed ofrece el servicio de custodia de muestras, teniendo la capacidad de almacenar muestras a temperatura ambiente, 4°C, -20°C, -80°C y en nitrógeno líquido, llevando un control del registro de temperaturas.

## **Custodia de datos**

El Biobanco Navarrabiomed también realiza la custodia, no solo de muestras, sino también de datos asociados a estas muestras custodiadas, o datos de otras muestras no custodiadas en el biobanco, mediante el uso de software específicos para ello.

## **Preparación de muestras para envío**

El Biobanco Navarrabiomed ofrece el servicio de preparación de muestras para envío, con posibilidad de llevar a cabo esta preparación en función de las necesidades del cliente.

## **ASESORAMIENTO CIENTÍFICO-TÉCNICO**

El Biobanco Navarrabiomed ofrece distintas opciones de asesoramiento científico-técnico. Todo este asesoramiento se realiza con el objetivo último de conseguir la máxima calidad de las muestras y, por lo tanto, facilitar la investigación con resultados de calidad.

## **Elaboración y revisión de protocolos de recogida y procesamiento de muestras**

El Biobanco Navarrabiomed elabora y revisa los protocolos de recogida y procesamiento de muestras, teniendo en cuenta las condiciones que exige el tipo de muestra, la coordinación con los puntos de recogida y las etapas a llevar a cabo en función de las características técnicas requeridas.

## **Participación, asesoramiento y soporte en proyectos de investigación**

El Biobanco Navarrabiomed ofrece la posibilidad de participar en proyectos de investigación, mediante el soporte y/o asesoramiento de estos proyectos.

## **Asesoramiento en el diseño de experimentos con muestras humanas**

Con la experiencia que tiene el Biobanco Navarrabiomed en trabajar con distintos tipos de muestras humanas, el biobanco asesora en el diseño experimental de un proyecto en el que se requieran muestras humanas, teniendo en cuenta el número de casos, el número de muestras y el tipo de muestras requeridas.

## **Asesoramiento en el diseño e interpretación de estudios inmunohistoquímicos**

El Biobanco Navarrabiomed ofrece asesoramiento en el diseño experimental de estudios inmunohistoquímicos, así como la interpretación de los resultados obtenidos en estos estudios.

## **Asesoramiento en puesta a punto de técnicas y puesta en marcha de colecciones**

El Biobanco Navarrabiomed asesora en la puesta a punto de técnicas, y ofrece la posibilidad de llevar a cabo esta puesta a punto. Aprovechando el conocimiento de gestionar distintas colecciones, el biobanco también asesora la puesta en marcha de nuevas colecciones.

## **Formación de personal**

El Biobanco Navarrabiomed ofrece la formación de personal en todas aquellas actividades que realiza, presentes en la cartera de servicios. Además, colabora con distintos centros y universidades acogiendo a personal en prácticas.

## **ASESORAMIENTO ÉTICO-LEGAL**

### **Revisión de proyectos de investigación con muestras**

El Biobanco Navarrabiomed presta asesoramiento en la revisión de proyectos de investigación que se realicen con muestras biológicas humanas. El asesoramiento incluye los aspectos científico-tecnológicos de la recogida, procesamiento y conservación de dichas muestras y/o los aspectos ético-legales de la recogida, con el fin de garantizar que se respetan los principios éticos esenciales de los pacientes y donantes.

## Elaboración y revisión de acuerdos de transferencia de muestras

El Biobanco Navarrabiomed elabora y revisa acuerdos de transferencia de muestras, conforme a la legislación vigente, basándose en las pautas marcadas por la Plataforma de Biobancos, aplicables no solo a biobancos sino también a otras instituciones.

## Elaboración y revisión de modelos de hoja de información y consentimiento informado

El Biobanco Navarrabiomed ofrece la elaboración y revisión de modelos de hoja de información y consentimientos informados, con el fin de transmitir al donante, de forma entendible, la utilidad y destino de sus muestras y datos asociados.

# PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

## TÉCNICAS CELULARES

### Aislamiento de células mononucleares de sangre periférica (CMSP)

El Biobanco Navarrabiomed realiza el aislamiento de células mononucleares de sangre periférica (CMSP) a partir de sangre fresca total mediante gradiente de Ficoll. Esta técnica permite separar componentes de la sangre como eritrocitos y leucocitos, ya que, después de la centrifugación, los componentes de la sangre se separan, de arriba abajo: plasma, capa de CMPS, Ficoll-Paque y capa de eritrocitos y granulocitos.

#### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:** Sangre total en tubo con anticoagulante.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas, y contener la fecha y hora de extracción.
- 3- **Volumen de muestra requerido:** 10-15 mL de sangre, preferentemente 12 mL.
- 4- **Condiciones de envío al biobanco:** El solicitante debe mandar las muestras a temperatura ambiente en caso de que el procesamiento en el biobanco se realice antes de las 4h desde de la extracción de la muestra. En caso en que el procesamiento se realice más de cuatro horas después de la extracción, conservar las muestras a 4°C hasta su procesamiento.
- 5- **Procesamiento de las muestras:** Procesar la sangre antes de 12h después de la extracción. El procesamiento se realiza en condiciones de esterilidad.
- 6- **Control de calidad:** Cuantificación del número de células y ensayos de viabilidad (Tryptan blue). La concentración celular resultante es de 10-15 millones de células por mililitro.



- 7- **Conservación de las muestras:** Las células en el biobanco se conservan en nitrógeno líquido.
- 8- **Entrega de las muestras:** Se entregan en hielo seco, en el medio de congelación 7.5-10% DMSO + SBF.

El número de células obtenidas y la viabilidad de las mismas dependen de muchos factores, como son las condiciones de transporte y almacenamiento de las muestras y el tiempo transcurrido entre la extracción de la sangre y la realización del ensayo. Para obtener un número de células considerable, 10-15 millones de células por mililitro, recomendamos que el tiempo entre la extracción y la recepción de las muestras en el biobanco no supere las 12 horas.

## TÉCNICAS MOLECULARES

### Cuantificación de ácidos nucleicos por Nanodrop

La cuantificación de ácidos nucleicos por Nanodrop 1000 permite la cuantificación de muestras de ADN y ARN, teniendo en cuenta las absorbancias a 260 y 280 nm. La principal ventaja es que para realizar la medición se requiere un volumen pequeño (1-2  $\mu\text{L}$ ) de muestra, ya que la muestra se pipetea directamente sobre la superficie del pedestal gracias a la tensión superficial, sin necesidad de utilizar ningún tipo de cubeta. De esta manera, permite además cuantificar muestras muy concentradas, sin necesidad de ser diluidas, aceptando muestras 50 veces más concentradas que las requeridas por métodos estándares con cubetas.

#### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:** ADN y/o ARN.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas.
- 3- **Volumen de muestra requerido:** 2  $\mu\text{L}$  de muestra por cada medición. Se solicitará además una alícuota del medio en el que está diluida la muestra de ácido nucleico.
- 4- **Condiciones de envío al biobanco:** El solicitante debe mandar las muestras de ADN a 4°C o a -20°C y las muestras de ARN a -80°C.
- 5- **Procesamiento de las muestras:** Los rangos de medida para las muestras de ADN están entre 2 y 3700 ng/ $\mu\text{L}$ , mientras que para las de ARN están entre 2 y 3000 ng/ $\mu\text{L}$ .
- 6- **Control de calidad:** Se tienen en cuenta los siguientes ratios:
  - Ratio 260/280: rango óptimo 1.8-2.0.
  - Ratio 260/230: indicador secundario de la pureza de los ácidos nucleicos.

### Extracción de ADN (a partir de sangre total, Buffy coat y CMSP)

El Biobanco Navarrabiomed ofrece el servicio de extracción y cuantificación de ADN a partir de sangre total, Buffy coat y CMSP. La extracción se lleva a cabo con el Kit de purificación de ArchivePure (5 Prime) y la cuantificación con Nanodrop 1000.

Para ello, tras llevar a cabo la lisis celular y precipitación de proteínas, se añade isopropanol para conseguir la precipitación del ADN. Finalmente se hidrata el ADN y se procede a la cuantificación del mismo.

#### Características generales del servicio

- 1- **Muestra de origen:** Sangre total en tubo con anticoagulante (preferiblemente EDTA) / Buffy coat / CMSP.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas, e ir acompañadas de la fecha y hora de extracción.
- 3- **Volumen de muestra requerido:**
  - Sangre: 5 mL
  - Buffy coat: 500 µL
  - CMSP: Entre 100 y 100 millones de células. Es necesario informar al biobanco de la cantidad exacta de CMSP.
- 4- **Condiciones de envío al biobanco:** Las muestras de sangre total pueden mandarse a temperatura ambiente siempre que el procedimiento se lleve a cabo no más tarde de las 4 horas posteriores a la extracción. Si se mandan y procesan más tarde, conservarlas a 4°C. Las muestras de Buffy coat y CMSP se mandan congeladas.
- 5- **Procesamiento de las muestras:** La extracción de ADN se consigue mediante una precipitación alcohólica manual.
- 6- **Normalización de muestras:** Según los requisitos del solicitante.
- 7- **Control de calidad:**
  - Cuantificación por Nanodrop 1000 (rango ADN: 2-3700 ng/µL)
  - Ratio Abs 260/280
- 8- **Conservación de las muestras:** Conservar a -80°C en el biobanco.
- 9- **Entrega de las muestras:** Se entregan a 4°C o congeladas en hielo seco, según lo requiera el solicitante.

Tras la extracción de ADN, se medirá la concentración y el ratio entre la absorbancia a 260nm y la obtenida a 280nm de la muestra (ratio 260/280) mediante espectrofotometría con Nanodrop 1000. Con esta tecnología, se obtiene una información importante de cada una de las muestra, permitiendo realizar un control de calidad de éstas, teniendo en cuenta sus intervalos óptimos de ratio 260/280 y concentración.

El Biobanco Navarrabiomed, como criterio de calidad, se considera un rango óptimo del ratio Abs 260/280 entre 1,8 y 2,0 y un rango aceptable entre 1,7 y 2,0.

## **AISLAMIENTO DE COMPONENTES SANGUÍNEOS**

Tanto en el aislamiento de suero como en el de plasma y de Buffy coat, hay parámetros como la velocidad y el tiempo de centrifugación que pueden variar en función del tipo de muestra que se tenga o del protocolo que se siga. El Biobanco Navarrabiomed se adapta a seguir los protocolos establecidos por el cliente para estos parámetros.

## Aislamiento de plasma

El aislamiento de plasma en el biobanco Navarrabiomed se lleva a cabo a partir de una centrifugación de muestras de sangre recogidas en tubos con anticoagulante, ya sea EDTA, ACD o heparina.

### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:** Sangre total en tubo con anticoagulante.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas e ir acompañadas de la fecha y hora de extracción.
- 3- **Condiciones de envío al biobanco:** El solicitante debe mandar las muestras a temperatura ambiente o a 4°C para tiempos superiores a 4 horas entre la extracción y el procesamiento de las muestras.
- 4- **Procesamiento de las muestras:** Se recomienda que el procesado se realice dentro de las 2 primeras horas desde la extracción de las muestras.
- 5- **Conservación de las muestras:** El plasma en el biobanco se conserva a -80°C.
- 6- **Entrega de las muestras:** Se entregan congeladas en hielo seco.

## Aislamiento de suero

El aislamiento de suero en el Biobanco Navarrabiomed, se lleva a cabo a partir de una centrifugación de muestras de sangre recogidas en tubos con partículas activadoras de la coagulación, en una centrífuga refrigerada, entre 15 y 24°C.

### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:** Sangre total en tubo sin anticoagulante.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas e ir acompañadas de la fecha y hora de extracción.
- 3- **Condiciones de envío al biobanco:** El solicitante debe mandar las muestras a temperatura ambiente o a 4°C para tiempos superiores a 4 horas entre la extracción y el procesamiento de las muestras.
- 4- **Procesamiento de las muestras:** Se recomienda que el procesado se realice entre 30 minutos y 2 horas después de la extracción de las muestras, siendo el tiempo óptimo de 1.5h ± 30min.
- 5- **Conservación de las muestras:** En el biobanco las muestras se almacenan a -80°C.
- 6- **Entrega de las muestras:** Se entregan congeladas en hielo seco.

## Aislamiento de Buffy coat

El aislamiento de Buffy coat en el Biobanco Navarrabiomed se lleva a cabo a partir de una centrifugación de muestras de sangre recogidas en tubos con anticoagulante, EDTA, ACD o heparina.

#### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:** Sangre total en tubo con anticoagulante.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas e ir acompañadas de la fecha y hora de extracción.
- 3- **Condiciones de envío al biobanco:** El solicitante debe mandar las muestras a temperatura ambiente o a 4°C para tiempos superiores a 4 horas entre la extracción y el procesamiento de las muestras.
- 4- **Procesamiento de las muestras:** Se recomienda que el procesado se realice dentro de las 2 primeras horas después de la extracción de las muestras.
- 5- **Conservación de las muestras:** En el biobanco el Buffy coat se conserva a -80°C.
- 6- **Entrega de las muestras:** Se entregan congeladas en hielo seco.

## RECOGIDA, PROCESAMIENTO Y ALMACENAJE DE MUESTRAS DE TEJIDO

### Congelación de tejido en criomolde/OCT

El Biobanco Navarrabiomed ofrece la posibilidad de preservar cualquier tipo de muestra de tejido en criomoldes a -80°C utilizando OCT. El OCT es un medio de inclusión que protege al tejido en el proceso de la congelación y que garantiza la temperatura óptima para realizar cortes de secciones de tejido al criostato.

#### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:** Tejido fresco.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas e ir acompañadas de la fecha y hora de extracción.
- 3- **Condiciones de envío al biobanco:** Condiciones específicas para cada tejido.
- 4- **Procesamiento de las muestras:** Idealmente, la congelación de la muestra debe realizarse no más tarde de los 30 minutos posteriores a la extracción del tejido.
- 5- **Conservación de las muestras:** Conservación en el biobanco a -80°C.
- 6- **Entrega de las muestras:** Se entregan congeladas en hielo seco.

También se pueden llevar a cabo tinciones histoquímicas de hematoxilina/eosina y PAS, para llevar a cabo un control de calidad de la congelación del tejido en el criomolde en los casos requeridos.

### Congelación de tejido en fresco

La congelación del tejido en fresco en el Biobanco Navarrabiomed se produce de forma rápida mediante inmersión en isopentano o en nitrógeno líquido (entre -180 y -200°C) para evitar la formación de cristales y desestructuración del tejido. Posteriormente, las muestras se almacenan a -80°C.

#### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:** Tejido fresco.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas e ir acompañadas de la fecha y hora de extracción.
- 3- **Condiciones de envío al biobanco:** Condiciones específicas para cada tejido.
- 4- **Procesamiento de las muestras:** Idealmente, la congelación de la muestra debe realizarse no más tarde de los 30 minutos posteriores a la extracción del tejido.
- 5- **Conservación de las muestras:** Conservación en el biobanco a -80°C.
- 6- **Entrega de las muestras:** Se entregan congeladas en hielo seco.

## Procesamiento de tejidos y elaboración de bloques de parafina

El Biobanco Navarrabiomed ofrece el servicio de procesar los tejidos desde su obtención hasta la elaboración de bloques de parafina, pasando por la fijación y la deshidratación de los tejidos. Por tanto, se ofrece la posibilidad de llevar a cabo las tres etapas del proceso (fijación, deshidratación y obtención de los bloques), o cualquier parte del proceso de forma independiente.

Con respecto a la fijación, etapa que permite conservar el tejido, el Biobanco Navarrabiomed utiliza formol y/o formaldehído como fijador. La fijación del tejido se lleva a cabo de forma inmediata después de la extracción, siendo el tiempo transcurrido normalmente inferior a 30 minutos.

Después de la fijación, se procede a la deshidratación de los tejidos, para finalmente elaborar los bloques de parafina. Una vez enfriados y solidificados, se puede proceder a realizar los cortes histológicos necesarios de estos bloques con micrótopo, manual o automatizado.

### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:**
  - Tejido fresco para realizar las tres etapas.
  - Tejido ya fijado para la deshidratación y la obtención de bloques.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas e ir acompañadas de la fecha y hora de extracción.
- 3- **Condiciones de envío al biobanco:** Condiciones específicas para cada tejido.
- 4- **Procesamiento de las muestras:** Fijación de las muestras no más tarde de los 30 minutos posteriores a la extracción del tejido.
- 5- **Conservación de las muestras:** Conservación en el biobanco de los bloques de parafina a temperatura ambiente.
- 6- **Entrega de las muestras:** Se entregan a temperatura ambiente.

También se llevan a cabo tinciones histoquímicas de hematoxilina/eosina y PAS, para llevar a cabo un control de calidad del fijado y parafinado del tejido.

## HISTOLOGÍA: PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS Y TINCIÓN

### Captura de imágenes histológicas

El Biobanco Navarrabiomed ofrece el servicio de captura de imágenes de preparaciones histológicas con microscopía óptica, que permite detectar zonas de interés. Las imágenes generadas estarán a disposición del solicitante. Para ello, se utiliza un microscopio óptico triocular Olympus BX1TF, además de un sistema de fotomicrografía digital Olympus DP73 con el software de captura y análisis de imagen *cellSens Entry*.

#### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:** Cortes de la muestra en portaobjetos con la tinción deseada.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas.
- 3- **Condiciones de envío al biobanco:** Las muestras se mandan a temperatura ambiente.
- 4- **Conservación de las muestras:** Conservación de los portaobjetos en el biobanco a temperatura ambiente.
- 5- **Entrega de las muestras:** Se entregan los portaobjetos a temperatura ambiente, además de los archivos digitales de las imágenes obtenidas.

### Cortes histológicos a partir de muestras incluidas en OCT

Una vez congelada la muestra en OCT, el Biobanco Navarrabiomed ofrece el servicio de realizar cortes histológicos de estas muestras en el criostato. Estos cortes serán de distinto grosor en función de lo que desee el solicitante y del uso posterior de dichos cortes, bien para técnicas histoquímicas, inmunohistoquímicas/inmunofluorescencia, o para extracción de ADN y ARN.

#### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:** Tejido congelado.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas.
- 3- **Condiciones de envío al biobanco:** Las muestras deben enviarse en hielo seco.
- 4- **Conservación de las muestras:** Conservación en el biobanco a -80°C hasta su entrega.
- 5- **Entrega de las muestras:** Se entregan en hielo seco.

También se llevan a cabo tinciones histoquímicas de hematoxilina/eosina y PAS, para llevar a cabo un control de calidad de los cortes histológicos realizados.

## Cortes histológicos a partir de muestras incluidas en parafina

Una vez hechos los bloques de parafina, el Biobanco Navarrabiomed ofrece el servicio de realizar cortes histológicos de estas muestras con un micrótopo Leica RM2255, tanto para técnicas histológicas como para obtener muestras de ADN y ARN. Los cortes pueden ir desde 2 hasta 15  $\mu\text{m}$ , siendo los más comunes de 3  $\mu\text{m}$  para las muestras de técnicas histológicas.

### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:** Tejido en bloques de parafina.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas.
- 3- **Condiciones de envío al biobanco:** Las muestras se mandan a temperatura ambiente.
- 4- **Conservación de las muestras:** Conservación en el biobanco a temperatura ambiente hasta su entrega.
- 5- **Entrega de las muestras:** Se entregan a temperatura ambiente.

También se llevan a cabo tinciones histoquímicas de hematoxilina/eosina y PAS, para llevar a cabo un control de calidad de los cortes histológicos.

## Tinción de muestras

En el Biobanco Navarrabiomed se realizan distintos tipos de tinciones tanto de muestras en bloques de parafina como congeladas en OCT. Para las muestras en bloques de parafina es necesario un tratamiento previo, que consiste en una desparafinación con un solvente orgánico, y una hidratación con una serie creciente de alcoholes. Sin embargo, las muestras en OCT no requieren de tratamiento previo. Entre otras, las tinciones que se realizan son:

- **Hematoxilina-eosina:** hematoxilina para teñir los núcleos de azul y eosina para teñir los citoplasmas de rosa.
- **Luxol:** tiñe la mielina de color azul.
- **Gallyas (tinción argéntica):** permite detectar pequeñas cantidades de proteínas y de ácidos nucleicos.
- **Rojo congo:** permite la tinción de proteínas, tiñendo el amiloide de un intenso color rojo.
- **PAS:** permite la tinción de carbohidratos y proteínas glicosiladas de color rojo magenta.
- **Azul de Prusia de Perls:** tinción que permite detectar el ión férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en preparaciones de tejidos, frotis de sangre o frotis de médula ósea.

### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:** Cortes de la muestra en un portaobjetos.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** El solicitante debe especificar: tipo de tejido, tipo de conservación, identificación de la muestra, tipo de tinción a realizar y número de cortes a realizar la tinción y grosor de los mismos.
- 3- **Condiciones de envío al biobanco:**

- Muestras en parafina: temperatura ambiente.
  - Muestras en OCT: en hielo seco.
- 4- **Procesamiento de las muestras:**
- Muestras en parafina: realización de la desparafinación e hidratación de las muestras antes de proceder a su tinción.
  - Muestras en OCT: no requieren de ningún tratamiento previo a la tinción.
- 5- **Conservación de las muestras:** Conservación de los portaobjetos en el biobanco a temperatura ambiente.
- 6- **Entrega de las muestras:** Se entregan a temperatura ambiente.

El Biobanco Navarrabiomed manda al cliente, si así lo desea, el portaobjetos teñido, un informe técnico con imágenes, la metodología usada y los resultados de la muestra. También se ofrece la posibilidad de adaptar cada una de las técnicas en función de las necesidades de cada cliente y de realizar otro tipo de tinciones.

## Inmunohistoquímicas

El Biobanco Navarrabiomed tiene la capacidad de llevar a cabo tanto determinaciones inmunohistoquímicas como la puesta a punto de estas técnicas. Para ello, dispone de un sistema automatizado que permite realizar inmunohistoquímicas de forma indirecta, es decir, un anticuerpo secundario, marcado con una sustancia visible, reconoce al anticuerpo primario que se une al antígeno de interés.

Esta técnica se realiza de forma automatizada utilizando el inmunoteñidor Leica Bond-Max. El kit Leica Bond aporta los polímeros que actúan como anticuerpo secundario. Con todo esto, el Biobanco Navarrabiomed tiene la capacidad de poner a punto la técnica con cualquier anticuerpo primario que no genere interacciones, además de ofrecer los controles positivo y negativo para cada anticuerpo concreto.

### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:** Cortes de la muestra en un portaobjetos.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas
- 3- **Condiciones de envío al biobanco:**
  - Muestras en parafina: temperatura ambiente.
  - Muestras en OCT: a -80°C.
- 4- **Conservación de las muestras:** Conservación de los portaobjetos en el biobanco a temperatura ambiente.
- 5- **Entrega de las muestras:** Se entregan a temperatura ambiente.

## Inmunofluorescencia

El Biobanco Navarrabiomed tiene la capacidad de llevar a cabo tanto determinaciones de inmunofluorescencia como la puesta a punto de estas técnicas. Para ello, se lleva a cabo un



procedimiento manual tanto directo, con un anticuerpo, marcado con un fluoróforo, que se une al antígeno de interés, como indirecto, donde un anticuerpo secundario, marcado con un fluoróforo, reconoce el anticuerpo primario que se une al antígeno de interés. Se permite realizar esta técnica con distintos tipos de anticuerpos y fluoróforos.

#### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:** Cortes de la muestra en un portaobjetos.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas.
- 3- **Condiciones de envío al biobanco:**
  - Muestras en parafina: temperatura ambiente.
  - Muestras en OCT: a -80°C.
- 4- **Conservación de las muestras:** Conservación de los portaobjetos en el biobanco a temperatura ambiente.
- 5- **Entrega de las muestras:** Se entregan a temperatura ambiente y en condiciones de oscuridad.

## **OBTENCIÓN, PROCESAMIENTO Y CONSERVACIÓN DE TEJIDO NEUROLÓGICO**

El Biobanco Navarrabiomed ofrece el servicio de obtención, procesamiento y conservación de tejido neurológico post-mortem. Dentro de este grupo de servicios, se llevan a cabo varias acciones que se detallan a continuación.

### **Captura de imágenes microscópicas y macroscópicas**

En el Biobanco Navarrabiomed se llevan a cabo imágenes de los tejidos neurológicos a nivel macroscópico, al recibir el tejido, y durante el tallado y preparación de estos tejidos para congelación o inclusión. Estas imágenes macroscópicas se realizan con la cámara digital Nikon D5300, que lleva acoplado un objetivo Nikkor AF-S de 40mm de formato DX. Todo esto con el objetivo de ver posibles anomalías en el tejido, que puedan ayudar al cliente en su estudio.

También se capturan imágenes a nivel microscópico de los cortes histológicos de estos tejidos neurológicos, tal y como se detalla en el apartado “Captura de imágenes histológicas”.

### **Despistaje priónico a través de inmunohistoquímica**

El Biobanco Navarrabiomed ofrece el servicio de realizar un cribado priónico a través de inmunohistoquímica, para poder así detectar si la muestra con la que se trata procede de un paciente con enfermedad priónica o no. Para ello, se sigue el proceso explicado en “Inmunohistoquímica”, siempre tomando las medidas de bioseguridad oportunas.

## Histoquímica e inmunohistoquímica de tejido neurológico

El Biobanco Navarrabiomed ofrece el servicio de histoquímica e inmunohistoquímica de tejido neurológico para realizar el diagnóstico neuropatológico. Para ello, se hacen bloques de parafina de las regiones anatómicas necesarias, siguiendo el procedimiento explicado en el apartado "Procesamiento de tejidos y elaboración de bloques de parafina". Las tinciones histoquímicas e inmunohistoquímicas se realizan tal y como se describe en los apartados "Tinción de muestras" e "Inmunohistoquímica", respectivamente.

## Procesamiento de líquido cefalorraquídeo (LCR)

El Biobanco Navarrabiomed ofrece el servicio de separar el líquido cefalorraquídeo (LCR) del resto de células que contiene el líquido que se extrae del cerebro, como eritrocitos y leucocitos. Para ello, se lleva a cabo una centrifugación de la muestra, cuya velocidad y temperatura dependerán de la petición del cliente y de la procedencia del LCR. Una vez centrifugado, el LCR se congela rápidamente a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:** Muestra de LCR.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas, e ir acompañadas de la fecha y hora de extracción.
- 3- **Condiciones de envío al biobanco:** Mandar el LCR no más tarde de las 2 horas posteriores a la extracción.
- 4- **Conservación de las muestras:** Conservar a  $-80^{\circ}\text{C}$  en el biobanco.
- 5- **Entrega de las muestras:** Se entregan congeladas en hielo seco.

## Extracción de ADN de LCR

El Biobanco Navarrabiomed realiza la extracción de ADN a partir de LCR. Para ello, primero es necesario llevar a cabo el procesamiento del líquido, tal y como se explica en el apartado "Procesamiento de LCR".

Para la extracción de ADN y su cuantificación con el Nanodrop 1000, se realiza el procedimiento descrito en el apartado "Extracción de DNA".

### Características generales del servicio:

- 1- **Muestra de origen:** LCR o pellet celular obtenido del LCR.
- 2- **Información necesaria de la muestra requerida al solicitante:** Las muestras deben ir correctamente identificadas, e ir acompañadas de la fecha y hora de extracción.
- 3- **Condiciones de envío al biobanco:**
  - Células: congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$ .
  - Muestras de líquido: No deben mandarse más tarde de las 2 horas posteriores a la extracción.
- 4- **Control de calidad:**

- Cuantificación por Nanodrop 1000 (rango ADN: 2-3700 ng/μL)
  - Ratio Abs 260/280
- 5- **Conservación de las muestras:** Conservar a -80°C en el biobanco.
- 6- **Entrega de las muestras:** Se entregan a 4°C o congeladas en hielo seco según lo requiera el solicitante.

Tras la extracción de ADN, se medirá la concentración y el ratio entre la absorbancia a 260nm y la obtenida a 280nm de la muestra (ratio 260/280) mediante espectrofotometría, con el Nanodrop 1000.

### **OTROS SERVICIOS: a petición**

Para la realización de servicios similares o relacionados con la actividad que no aparezcan en esta cartera de servicios, el Biobanco Navarrabiomed estudiará cada uno de los casos en particular y valorará su viabilidad. Para ello, debe mandarse la solicitud del servicio a la siguiente dirección de correo electrónico: [biobanco.navarrabiomed@navarra.es](mailto:biobanco.navarrabiomed@navarra.es)