

**Universidad Nacional de Asunción
Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud**



Biobanco IMID -Paraguay

PNT Suero

Grupo de Trabajo en Banco IMID

REVISIÓN	REALIZADO	FECHA	APROBAD	FECHA	ENTRADA EN VIGOR
00					
Modificaciones:					

San Lorenzo 2015

Obtención, Procesado Y Almacenaje de Muestras de Suero

AUTORES.

El contenido de este Código de Buenas Prácticas ha sido elaborado por el **Grupo de Trabajo de Biobanco-Seroteca** www.iics.una.py

Dra María Eugenia Acosta de Hetter
Dra Yvalena de Guillen

ÍNDICE

1.	ABREVIATURAS.....	6
2.	DEFINICIONES.....	6
3.	OBJETO	6
4.	ALCANCE.....	6
5.	MATERIALES Y SERVICIOS	7
6.	DESARROLLO	8
6.1	CONSIDERACIONES PREVIAS.....	8
6.2	EXTRACCIÓN DE SANGRE	8
6.3	RECEPCIÓN DE LA MUESTRA EN EL LABORATORIO	8
6.4	PROCESAMIENTO: OBTENCIÓN DE SUERO Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	9
7.	DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA.....	10
8.	DOCUMENTACIÓN RELACIONADA	10

1. ABREVIATURAS

IICS: Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud

FCM: Facultad de Ciencias Médicas

UNA: Universidad Nacional de Asunción

2. DEFINICIONES

SUERO SANGUÍNEO O SUERO HEMÁTICO: Fracción de sangre resultante tras la coagulación y eliminación del coágulo de fibrina y otros componentes. Equivalente al plasma sanguíneo sin las proteínas que intervienen en la coagulación.

MUESTRA HEMOLIZADA: es la ruptura de los hematíes que libera hemoglobina y otras sustancias en el plasma/suero debido al cual adquiere un color entre rosa y rojo.

MUESTRA COAGULADA: se produce debido a una extracción difícil de larga duración, por no mezclar la sangre en los tubos adecuadamente o por las características del paciente.

MUESTRA CON ICTERICIA: suero o plasma que contiene un aumento en los niveles de bilirrubina y que le da al mismo una coloración amarilla más intensa.

MUESTRA LIPÉMICA: suero o plasma que contiene un alto contenido en grasa y aspecto lechoso y/o turbio y se puede presentar en muestras de pacientes que no han guardado el ayuno recomendado y con una ingesta copiosa de alimentos.

3. OBJETO

El objeto de este procedimiento es definir la actuación y establecer las directrices básicas de calidad, ya sea tanto en la obtención y manejo, como en el procesamiento de las muestras de suero que sean depositadas en los biobancos pertenecientes a cualquier centro u hospital que participe en el proyecto de Biobancos sede IICS-UNA.

4. ALCANCE

Este procedimiento es aplicable a todas las muestras de suero que sean obtenidas con la finalidad de ser almacenadas en un biobanco. Este protocolo no detalla los procesos para la seguridad e higiene laboral sobre materiales de riesgo biológico y/o productos químicos, y se recomienda que el personal siga las normas de Seguridad e Higiene establecidas en cada centro.

5. MATERIALES Y SERVICIOS

- Servicio de mensajería con permiso de transporte de material biológico*:

Material	Clasificación ONU	
	Clase	Nº
Muestras infecciosas para el ser humano	6.2	2814
Muestras para diagnóstico	6.2	3373

**Para mayor información remitirse al punto Documentación Relacionada (1)*

- Para muestras no infecciosas: Bolsa o contenedor de transporte interno en el centro hospitalario.
- Para muestras infecciosas o peligrosas : Contenedor de transporte de sustancias peligrosas que cumpla con la legislación vigente
- Jeringuillas y/o material necesario para la extracción de sangre.
- Conservadora portátil 4°C
- Tubo de extracción de sangre de 15mL
- -Guantes para protección en la manipulación
- micro tubos estériles tipo ependorf (1,5 mL)
- -Gradillas para tubos de extracción sanguínea
- -Gradillas para microtubos
- -Cajas de microtubos para almacenaje
- -Etiquetas adecuadas al tipo de microtubos
- Puntas estériles con o sin filtro adaptables al tipo de pipetas utilizadas
- Pipetas (Que recojan volúmenes entre 0,2 y 1 mL)
- Papel de filtro
- Centrífuga con los adaptadores adecuados para el tipo de tubos de extracción utilizados
- Impresora para etiquetado de muestras
- Ultracongelador de -20°C con sistema de registro de temperatura, sistema de mantenimiento de temperatura en caso de corte de corriente eléctrica y sistema de alarma telefónica
- Software de gestión de muestras aplicable a cada centro (Ejemplos: aplicación BBUN (Maxwell), aplicación Bio-e Bank, etc...)

6. DESARROLLO

6.1 CONSIDERACIONES PREVIAS

- La centrifugación debería realizarse en una centrífuga refrigerada (15-24°C).
- Re-centrifugación de los tubos de plástico cónicos de 15mL se realiza para mayor extracción de suero
- Para investigación en Biomarcadores
 - El tiempo de extracción de la muestra es especialmente importante en el estudio de Biomarcadores influenciados por el ritmo circadiano.
 - Los procesos de degradación en el suero son tiempo-dependiente y temperatura-dependiente. Para la investigación de Biomarcadores que son altamente sensibles a estos dos factores es fundamental procesar la muestra en un tiempo mínimo. Es el caso de estudios enfocados a búsqueda de biomarcadores mediante metabolómica y/o proteómica.
- Los ciclos de congelación-descongelación pueden alterar la concentración de ciertos Biomarcadores. De tal forma que muestras con repetidos ciclos de congelación-descongelación (dos o más ciclos) deberían no ser utilizadas en determinados estudios y separadas para su control.

6.2 EXTRACCIÓN DE SANGRE

- 6.2.1 Se realizará tras la firma del consentimiento informado por parte del paciente (bien de estudio específico y/o biobanco)
- 6.2.2 La obtención se realiza en tubos de extracción sanguínea sin anticoagulantes para obtención del suero y con EDTA para la extracción del ADN.
- 6.2.3 Tras la obtención es necesario invertir el tubo con EDTA varias veces suavemente para evitar la coagulación (4 veces máximo). Mantener el tubo en posición vertical posteriormente.
- 6.2.4 La muestra perfectamente etiquetada y la petición se transporta al laboratorio junto con el consentimiento informado, manteniendo las pautas de seguridad de transporte de material biológico establecidas por cada centro. Se recomienda que el tiempo transcurrido entre la extracción sanguínea y la congelación a -20°C sea definido en base al tipo de estudios para los que la muestra vaya a estar destinada; así, en función de ensayos previos, se ha determinado:
 - a) Tiempo óptimo para estudios celulares: máximo 1,5 horas tras la extracción.
 - b) Tiempo óptimo para estudios virológicos: máximo 24 horas tras la extracción.

6.3 RECEPCIÓN DE LA MUESTRA EN EL LABORATORIO

- 6.3.1 Verificar la información e identificación de los tubos y asegurar la correcta relación entre los tubos y la información del paciente, siguiendo el compromiso de confidencialidad.
- 6.3.2 Etiquetar y registrar la muestra según el procedimiento de gestión de muestras utilizado por cada centro.

6.3.3 Rellenar la hoja de datos mínimos necesarios para un correcto almacenamiento de la muestra. En el momento de la extracción se aconseja recoger la máxima información posible relativa a la muestra

- Fecha y hora de extracción.
- Tipo de anticoagulante.
- Incidencias ajenas al protocolo.

6.4 PROCESAMIENTO: OBTENCIÓN DE SUERO Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

6.4.1 El procesamiento de la sangre periférica para la obtención de suero, debe hacerse en el menor tiempo posible, estableciéndose un tiempo de procesado óptimo de 1.5 h \pm 30 min.

6.4.2 Para evitar la activación plaquetaria, las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente tras la extracción y hasta su centrifugación evitando la exposición directa a la luz

6.4.3 Una vez recibida la muestra en el laboratorio, mantener el tubo de sangre en vertical en una gradilla para su coagulación durante 30 min contado desde el momento de la extracción. Si la muestra no se centrifuga seguidamente transcurrido este tiempo, deberá mantenerse a 4°C en posición vertical hasta su procesamiento y almacenamiento posterior (máximo 2 h), anotando la incidencia en la hoja de laboratorio.

6.4.4 Centrifugar la muestra entre 3500-4000 rpm a temperatura ambiente, durante 10 min.

6.4.5 Aspirar cuidadosamente la fracción superior de aspecto claro y transparente, de color amarillento (suero) con ayuda de una pipeta Pasteur estéril o una micropipeta de volumen adecuado sin tocar el gel de la interfase.

6.4.6 Alicuotar en fracciones de, al menos, 0.6-0.8 ml en viales de congelación adecuados, debidamente etiquetados e identificados hasta transferir todo el suero. Sellar correctamente los tubos para conseguir un cierre hermético. Registrar el número de alícuotas obtenidas para cada muestra.

6.4.7 Registrar la ubicación de la muestra en el software de gestión de muestras que maneje el biobanco.

7. DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

1-CÓDIGO DE BUENAS PRÁCTICAS aplicables a biobancos de investigación biomédica en España.Red de Biobancos –Instituto San Carlos III- 2012

8. DOCUMENTACIÓN RELACIONADA

1. Instrucciones Técnicas para el transporte sin riesgos de mercancías peligrosas por vía aérea-OACI 2009. http://www.traficoadr.com/oaci/oaci_2006.htm
2. Australasian Biospecimen Network, 2007. Guidelines for Biorepository Protocols.
3. Teunissen CE, et al., 2009. A consensus protocol for the standarization of cerebral fluid collection and biobanking. *Neurology* 73:1914-1922.
4. Sample Handling and Storage Subgroup and Recommendations. 2004. the UK Biobank.
5. Holland NT., Smith MT., Eskenazi b., Bastaki M. Biological sample and processing for molecular epidemiological studies. *Mutation Research* 2003; 543:217-34
6. Bernini P, Bertini I, Luchinat C, Nincheri P, Staderini S, Turano P. Standar operating procedures for pre-analytical handling of blood and urine for metabolic studies and biobanks. *J Biomol NMR*, 2011 49:231-243.
7. Sheldon E, Kim Chi MS, McIntire RA, Aghajanova D, Zelenko Z, Irwin JC, Linda C Biobanking human endometrial tissue and blood specimens: standard operating procedure and importance to reproductive biology research and diagnosis development.. *Fertility and Sterility* Vol 95, N°6 May 2011.
8. NCI. NCI best practices for biospecimen resources. June 2007. Available at: www.nci.nih.gov. Last accessed February 23, 2011.
9. Kisand K, Kerna I, Kumn J, Jonsson H, Tamm A. Impact of cryopreservation on serum concentration of matrix metalloproinases (MMP)-7, TIMP-1, vascular growth factors (VEGF) and VEGF-R2 in Biobank samples. *Clin Chem Lab Med* 2011;49(2):229-235
10. ISBER Best Practices for repositories: Collection, storage, retrieval and distribution of biological materials for research. *Cell Preservation Technology* 6(1), 3-58, 2008 <http://www.isber.org/Pubs/BestPractices2008.pdf>
11. HIV/AIDS Network Coordination (HANC). <http://www.hanc.info>

