



**Red Biobancos**

Instituto de Salud Carlos III

Red Nacional  
de Biobancos

Spanish National  
Biobank Network

# PNT Eritrocitos

Grupo de Trabajo en Banco de Cerebros

REVISIÓN	REALIZADO	FECHA	APROBADO	FECHA	ENTRADA EN VIGOR
00	Grupo de Derivados Hemáticos	26/05/2011	Dirección	26/05/2011	19/07/2011
Modificaciones:					

Madrid 2011



## Obtención, Procesado y Almacenaje de Muestras de Eritrocitos

La presente publicación está financiada por Subprograma de Redes Temáticas de Investigación Cooperativa en Salud del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), dentro la Acción Estratégica en Salud 2009, RD09/0076/00113

M<sup>a</sup> Ángeles Muñoz  
Coordinadora del  
Grupo de Trabajo

Manuel M Morente.  
Coordinador de la Red  
Nacional de Biobancos - ISCIII

Red Nacional de Biobancos - ISCIII

[www.redbiobancos.es](http://www.redbiobancos.es)



## AUTORES.

El contenido de este Código de Buenas Prácticas ha sido elaborado por el [Grupo de Trabajo de Derivados Hemáticos](#) ([www.redbiobancos.es](http://www.redbiobancos.es)):

Maribel García Sánchez, Hospital Virgen Macarena

Lina Mayorga, Hospital Carlos Haya

Tatiana Díaz, Hospital Carlos Haya

Inmaculada Martín, Hospital Carlos Haya

Pilar Giraldo Castellanos, Hospital Miguel Servet

Fernando Civeira Murillo, Hospital Miguel Servet

Miguel Pocoví Mieras, Hospital Miguel Servet

Pablo Isidro Marrón, Hospital Central de Asturias

Jacobo Martínez, Centro Superior de Investigación en Salud Pública (CSISP)

Inés Santiuste, Hospital Marqués de Valdecilla

José Manuel González de Buitrago, Hospital Universitario de Salamanca

Eduarne Pedrosa, Fundación Instituto de Investigación Germán Trías i Pujol

Alfonso Monje Hernández, San Juan de Dios. Servicios de Salud Mental

Gerard Pardo, Hospital Dr. Josep Trueta

Beatriz Bellosillo, Hospital del Mar

Luis Gallart Millán, Hospital Joan XXIII

Anna Bosch, Hospital Clínico y Provincial de Barcelona - IDIBAPS

Nieves Doménech García, Complejo Hospitalario Universitario de La Coruña

M<sup>a</sup> Ángeles Muñoz Fernández, Hospital Gregorio Marañón

Almudena García Torres, Hospital Gregorio Marañón

Irene Consuegra, Hospital Gregorio Marañón

Rosario Martínez Marín, Hospital Virgen de La Arrixaca

M<sup>a</sup> Antonia Fortuño Cebamanos, Clínica Universidad de Navarra

Isabel Gil Aldea, Hospital de Navarra

Inés Aroca Siendones, Hospital Universitario San Cecilio, Granada,

Clara Rodríguez, BioBanco Vasco/Centro Vasco de Transfusiones

**Coordinador:**

M<sup>a</sup> Ángeles Muñoz, Hospital Gregorio Marañón



## ÍNDICE

1.	ABREVIATURAS.....	8
2.	DEFINICIONES:.....	8
3.	OBJETO .....	8
4.	ALCANCE.....	8
5.	MATERIALES Y SERVICIOS .....	9
6.	DESARROLLO .....	10
6.1.	COORDINACIÓN PARA LA CORRECTA OBTENCIÓN Y RECEPCIÓN DE MUESTRAS SANGUINEAS EN EL BIOBANCO.....	10
6.2.	SEPARACIÓN DE ERITROCITOS A PARTIR DE SANGRE TOTAL .....	10
6.3.	PROCESADO DE ERITROCITOS PARA ESTUDIOS DE DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS DE MEMBRANA.....	11
6.4.	PROCESADO DE LA MUESTRA PARA MANTENER LA INTEGRIDAD DE LOS ERITROCITOS.....	11
7.	DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA.....	12
8.	DOCUMENTACIÓN RELACIONADA .....	12

## 1. ABREVIATURAS

- **BHT:** Hidroxitoluenobutilado
- **PBS:** (Phosphatedbufferedsaline) Suero salino tamponado en fosfatos
- **EDTA:** Ácido etilendiamintetraacético. El EDTA atrae a los iones de calcio bloqueando la cascada de coagulación. (sal dipotásica K2 ó K3 )
- **ACD:** Ácido cítrico, Citrato y Dextrosa en una proporción de 0.9, 2 y 2 g respectivamente en 120 ml de agua destilada. Se emplea en obtención de plasma para pruebas de coagulación y función plaquetaria. Se usa en recolección y almacenamiento para transfusiones, ya que preserva la sangre, concretamente la supervivencia de los eritrocitos durante más tiempo, 21-32 días- 70% supervivencia. Altera la concentración de calcio.

## 2. DEFINICIONES

- **Solución de congelación:** Composición: 28% (v/v) o 35% (w/v) glicerol, 3% Manitol, 0,65% ClNa, H<sub>2</sub>O<sub>bd</sub>.
- **Eritrocito:** son los elementos más numerosos de la sangre, su objetivo es transportar el oxígeno hacia los diferentes tejidos del cuerpo. La cantidad considerada normal fluctúa entre 4.500.000 (en la mujer) y 5.000.000 (en el hombre) por milímetro cúbico (o microlitro).

## 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 eritrocitos que serán depositadas en los biobancos pertenecientes a cualquier centro u hospital adscrito a la Red Nacional de Biobancos.

## 4. ALCANCE

Este procedimiento es aplicable a todas las muestras de eritrocitos 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		Instrucciones de embalaje				Observaciones
	Clase	Nº	ADR	RID	OACI	IMDG	
Muestras infecciosas para el ser humano	6.2	2814	620	620	692	620	Materiales grupos 2,3,4
Muestras para diagnóstico	6.2	3373	650	650	650	----	Materiales grupos 1,2,3

- 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: Real Decreto 664/97, siguiendo la “Instrucción de embalaje 620 (IATA – OACI 602)”
  - Jeringuillas y/o material necesario para la extracción de sangre.
  - Jeringuillas o material para la extracción de sangre
  - Guantes
  - Tubo de PP de 15mL
  - Pipetas de transferencia de 3,5 mL estériles
  - Criotubos de 2 mL
  - PBS 1X
  - BHT 1 mM (butylatedhydroxytoluene)
  - Solución de congelación
  - Micropipetaautomática (volumen 0,5-10 µL)
  - Puntas estériles para micropipeta
  - Centrífuga
  - Balanza analítica

## 6. DESARROLLO

### 6.1. COORDINACIÓN PARA LA CORRECTA OBTENCIÓN Y RECEPCIÓN DE MUESTRAS SANGUINEAS EN EL BIOBANCO

**6.1.1.** La sangre debe extraerse con posterioridad a que el paciente haya firmado el consentimiento informado de donación de muestras al biobanco.

**6.1.2.** La extracción sanguínea se realiza por venopunción en una vía periférica. Los responsables de llevar a cabo este procedimiento, así como de la programación de las extracciones, se coordinarán con el personal del biobanco para garantizar que los tubos de recolección de la sangre con anticoagulante estén debidamente identificados y se asegure una correcta obtención y recepción de la muestra. El tipo de anticoagulante empleado ha de ser el más apropiado para los estudios a los que se destina la muestra, en función de la experiencia previa, se aconseja:

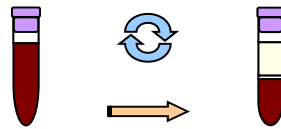
- a) EDTA con K2 o K3 si de la muestra se van a extraer otros tipos de derivados, como plasma o suero.
- b) Heparina si la muestra también se destina a estudios de proliferación celular.
- c) ACD si sólo se van a extraer eritrocitos.

**6.1.3.** En el momento de la extracción se aconseja recoger la máxima información posible relativa a la muestra:

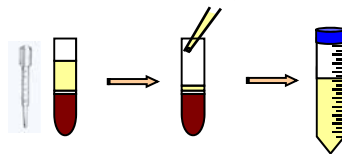
- Fecha y hora de extracción.
- Tipo de anticoagulante.
- Incidencias ajenas al protocolo.

### 6.2. SEPARACIÓN DE ERITROCITOS A PARTIR DE SANGRE TOTAL

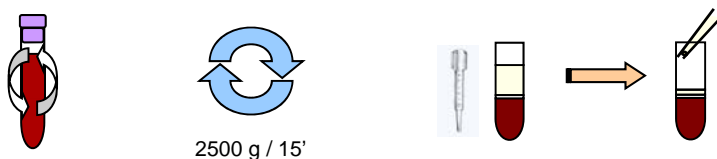
**6.2.1.** Centrifugar el tubo a 2.500g durante 15 minutos a temperatura ambiente.



**6.2.2.** Aspirar el plasma con una pipeta de transferencia, evitando aspirar leucocitos (forman una fina capa blanca por encima de los eritrocitos), y transferirlo a un tubo de 15 mL. Si se requiere almacenar el plasma, procesarlo de inmediato aplicando el PNT correspondiente.

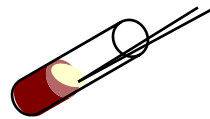


**6.2.3.** Rellenar el tubo con PBS 1X a temperatura ambiente y agitar por inversión. Centrifugar a 2500 g durante 15 minutos a temperatura ambiente. Descartar el sobrenadante, evitando aspirar leucocitos (forman una fina capa blanca por encima de los eritrocitos).



**6.2.4.** Repetir el lavado con PBS 1X

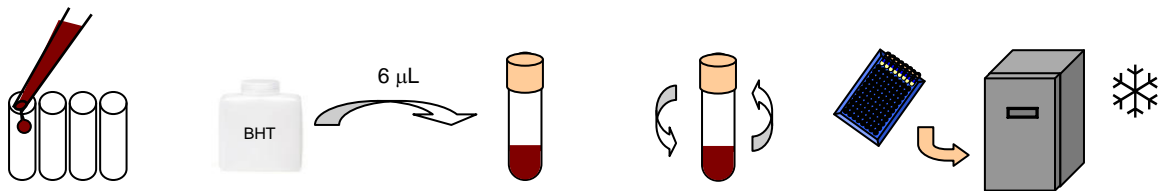
**6.2.5.** Aspirar la capa blanca de leucocitos y parte de los eritrocitos con una pipeta de transferencia y transferirlo a un tubo de 15 mL. El volumen aspirado ha de ser de 1,5 mL y se corresponde con un pellet rojo. Si se requiere, procesar los leucocitos.



### **6.3. PROCESADO DE ERITROCITOS PARA ESTUDIOS DE DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS DE MEMBRANA**

**6.3.1.** Hacer alícuotas de 600  $\mu$ L de eritrocitos en criotubos de 2 mL convenientemente etiquetados y añadir 6  $\mu$ L de BHT 1 mM a cada alícuota. Agitar suavemente por inversión.

**6.3.2.** Congelar a  $-80^{\circ}\text{C}$



### **6.4. PROCESADO DE LA MUESTRA PARA MANTENER LA INTEGRIDAD DE LOS ERITROCITOS**

**6.4.1.** Pesar el paquete de eritrocitos remanente y añadir el mismo volumen de Solución de Congelación que el peso del paquete.

**6.4.2.** Dejar estabilizar 20 minutos a temperatura ambiente ( $22^{\circ}\text{C}$ ).

**6.4.3.** Congelar por inmersión en  $\text{N}_2$  líquido y mantener congelado en  $\text{N}_2$  líquido o en su fase vapor.

### **6.5. MANTENIMIENTO DE LA TRAZABILIDAD Y DATOS ASOCIADOS A LA MUESTRA.**

En el biobanco se aconseja recoger la máxima información posible relativa a la muestra, tanto en el momento de la recepción como tras el procesado y almacenaje, y en función de los estudios destinados a la misma, por ejemplo:

- Fecha y hora de recepción y/o procesamiento
- Grado de hemólisis
- Volumen de sangre recibida
- Grado de Lipemia
- Grado de Ictericia
- Nivel de coagulación
- Incidencias en el procesado

# Red Nacional de Biobancos

Spanish National  
Biobank Network



***Red Biobancos***

Instituto de Salud Carlos III