



Red Biobancos

Instituto de Salud Carlos III

Red Nacional
de Biobancos

Spanish National
Biobank Network

PNT Suero

Grupo de Trabajo en Banco de Cerebros

REVISIÓN	REALIZADO	FECHA	APROBADO	FECHA	ENTRADA EN VIGOR
00	Grupo de Derivados Hemáticos	26/05/2011	Dirección	26/06/2015	19/07/2011
Modificaciones:					

Madrid 2011

Obtención, Procesado Y Almacenaje de Muestras de Suero

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^a 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

AUTORES.

El contenido de este Código de Buenas Prácticas ha sido elaborado por el **Grupo de Trabajo de Derivados Hemáticos** (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^a 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^a 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^a Ángeles Muñoz, Hospital Gregorio Marañón

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

IATA: International Air Transport Association

OACI/ICAO: International Civil Aviation Organization

SAE: Sistema de administración de energía

g: aceleración gravedad (unidad de medida de la FCR:Fuerza Centrífuga Relativa)

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 adscrito a la Red Nacional de BioBancos.

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		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 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: Real Decreto 664/97, siguiendo la “Instrucción de embalaje 620 (IATA – OACI 602)”
- Jeringuillas y/o material necesario para la extracción de sangre.
- Nevera portátil 4°C
- Tubo de extracción de sangre por sistema de vacío con tapón de seguridad y gel separador
- -Guantes para protección en la manipulación
- -Pipetas Pasteur estériles de 1 mililitro
- Criotubos estériles (desde 0.5 a 2 mililitros)
- -Gradillas para tubos de extracción sanguínea
- -Gradillas para criotubos
- -Cajas de crioalmacenaje
- -Etiquetas adecuadas al tipo de criotubos
- Puntas estériles con o sin filtro adaptables al tipo de pipetas utilizadas
- Pipetas (Que recojan volúmenes entre 0,2 y 1mililitro)
- Papel de filtro
- Centrífuga con los adaptadores adecuados para el tipo de tubos de extracción utilizados
- Impresora para etiquetado de muestras
- Ultracongelador de -80°C con sistema de registro de temperatura, sistema de mantenimiento de temperatura en caso de corte de corriente eléctrica (inyección de CO₂, sistema de administración de energía (SAE) interno, sistema electrógeno) 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

- El tipo de centrifuga utilizada puede influir en la estabilidad de la barrera de gel. El uso de una centrifuga con rotor oscilante, en lugar de una centrifuga con rotor angular, permite la obtención de una barrera de gel más estable. La centrifugación debería realizarse en una centrifuga refrigerada (15-24°C).
- Re-centrifugación de los tubos con gel separador está terminantemente prohibida, ya que podría provocar cambios en los resultados analíticos (por ejemplo potasio)
- 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 con gel y partículas activadoras de la coagulación como aditivo. Hay distintos formatos de tubos desde 5 ml hasta 8,5 ml que pueden ser utilizados (Vacuette; Vacutainer, etc...).
- 6.2.3 Tras la obtención es necesario invertir el tubo varias veces suavemente para favorecer la coagulación al poner en contacto la sangre con las partículas activadoras de la misma (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 -80°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 exigido por la Ley de Protección de Datos.
- 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.

** Existen diversos modelos de Hoja de Recogida de Datos dependiendo del biobanco receptor de las muestras, adaptados a las características específicas de su funcionamiento y a su operativa interna.*

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 ± 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 1500-2000 g 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, 0.3-0.5 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

- Norma UNE-EN-ISO 9001:2008. *Sistemas de gestión para la calidad. Requisitos.*
- La Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal, (LOPD).
- Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica (LIB).

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, Nº6 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>

HIV/AIDS Network Coordination (HANC). <http://www.hanc.info>

Red Nacional de Biobancos

Spanish National
Biobank Network



Red Biobancos

Instituto de Salud Carlos III