

TÍTULO: OBTENCIÓN, PROCESADO Y ALMACENAJE DE MUESTRAS DE PLASMA SANGUÍNEO		
ARCHIVADO: PNT_8.5.001_v1.2_ES_PLASMA_OBTENCION_PROCESADO_A LMACEN		Nº DE CÓDIGO: 8.5.001
VERSIÓN: 1.2	FECHA DE EDICIÓN: 11/8/2016	PÁG. 1 DE 3

REVISADO POR: Estefanía Piñero, Laura Vidaña, Daniel Pons FECHA: 11/08/2016	FIRMA:
APROBADO POR: Cristina Villena FECHA: 11/08/2016	FIRMA:

1. OBJETIVO

Este procedimiento tiene por objeto garantizar que las muestras de plasma sanguíneo de pacientes que han consentido participar en la Plataforma Biobanco Pulmonar, se conserven de manera segura, oportuna y eficiente, evitando riesgos de contaminación y pérdidas.

2. ALCANCE

Este procedimiento describe la manera de obtener, procesar y almacenar las muestras de plasma sanguíneo.

Este PNT 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.

3. DOCUMENTACIÓN RELACIONADA

- *Tabla tubos recomendados y sus equivalencias PBP.*

4. FUNCIONES Y RESPONSABILIDADES

El cumplimiento de este PNT recae sobre todos los miembros de la Plataforma Biobanco Pulmonar que son responsables de la gestión, procesado y almacenaje de plasma sanguíneo.

5. MATERIAL Y EQUIPO

Los materiales, equipos y formas que se enumeran en la siguiente lista son sólo recomendaciones y pueden ser sustituidos por medios equivalentes más adecuados para el lugar dónde se realiza la tarea o procedimiento.

Materiales y Equipos	Materiales y Equipos (específicos de centro)
Bolsa o contenedor de transporte interno en el centro hospitalario	
Tubo de extracción sanguínea para hematología con anticoagulante EDTA (K3E o K2E)	
Centrífuga con adaptadores para tubos de extracción sanguínea	
Pipetas pasteur estériles	
Gradillas para tubos de extracción sanguínea	

TÍTULO: OBTENCIÓN, PROCESADO Y ALMACENAJE DE MUESTRAS DE PLASMA SANGUÍNEO**ARCHIVADO:**

PNT_8.5.001_v1.2_ES_PLASMA_OBTENCION_PROCESADO_ALMACEN

Nº DE CÓDIGO: 8.5.001

Gradillas para criotubos	
Criotubos de 1,5 a 2ml, estériles	
Marcadores y bolígrafos	
Guantes para proteger al personal de manipulación de sangre y/o materiales de riesgo biológico	
Papel de filtro	
Bata de protección frente derrames y salpicaduras	
Etiquetas suficientes y adecuadas para tubos de recogida	
Etiquetas suficientes y adecuadas para criotubos de almacenaje	
Impresora de etiquetaje	
Cajas de criotalmacenaje	
Ultracongelador -80°C	

6. DEFINICIONES

Plasma sanguíneo: El plasma sanguíneo es la fracción líquida y acelular (matriz extracelular) de la sangre. Está compuesto por un 90% de agua y múltiples sustancias disueltas en ella. De éstas las más abundantes son las proteínas. También contiene glúcidos y lípidos, así como los productos de desecho del metabolismo. Es el componente mayoritario de la sangre, puesto que representa aproximadamente el 55% del volumen sanguíneo total. El 45% restante corresponde a los elementos formes (tal magnitud está relacionada con el hematocrito).

7. PROCEDIMIENTOS**7.1 COORDINACIÓN PARA LA OBTENCIÓN Y PROCESADO DE MUESTRAS SANGUÍNEAS**

1. Preferiblemente, la sangre debe obtenerse antes de la intervención quirúrgica, y su extracción ser lo más cercana posible a la fecha de obtención del tejido pulmonar. Se recomienda que para un posible estudio proteómico del plasma sanguíneo el tiempo transcurrido entre la extracción sanguínea y la congelación a -80°C no sea superior a *45 min.*
2. La persona responsable para llevar a cabo este procedimiento, con el conocimiento de la programación de la intervención quirúrgica, se coordinará con el personal cualificado para la extracción sanguínea para que los tubos de recolección de la sangre estén debidamente identificados y para garantizar una correcta obtención de la muestra.

7.2 VERIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LOS TUBOS

1. Verificar la información del paciente, siempre manteniendo la privacidad y ética enmarcada en la Ley de Protección de Datos, y asegurar la correcta relación de los tubos de extracción sanguínea (debidamente etiquetados) con la información del paciente.
2. Etiquetar un tubo de bioquímica con EDTA-K3E/K2E para la extracción sanguínea.

7.3 OBTENCIÓN DE PLASMA SANGUÍNEO

1. Extraer sangre recogiéndola en un tubo de extracción sanguínea para *hematología con EDTA correctamente identificado.*
2. Inmediatamente tras la extracción invertir suavemente el tubo para favorecer que la sangre se mezcle bien con el anticoagulante EDTA-K3E/K2E.

TÍTULO: OBTENCIÓN, PROCESADO Y ALMACENAJE DE MUESTRAS DE PLASMA SANGUÍNEO	
ARCHIVADO: PNT_8.5.001_v1.2_ES_PLASMA_OBTENCION_PROCESADO_ALMACEN	Nº DE CÓDIGO: 8.5.001

3. Transportarla al laboratorio para su procesado en un tiempo *no superior a 45 min.* desde la extracción, manteniendo las pautas de seguridad de transporte de material biológico establecidas por cada centro.
4. *Centrifugar los tubos de sangre a 1500g durante 15 minutos. Tras la centrifugación observaremos tres capas:*
 - *La fracción superior o sobrenadante, de aspecto claro y transparente, y de un color amarillo pálido que corresponde al plasma sanguíneo.*
 - *La segunda fracción o intermedia es fina y de color gris-blanco, y representa la fracción de leucocitos.*
 - *La tercera fracción o inferior es de un color rojo oscuro y corresponde a los eritrocitos o hematíes.*
5. *Durante el tiempo de centrifugación preparar 4-5 crioviales para el almacenaje del plasma, debidamente etiquetado e identificado.*
6. Después de la centrifugación, aspirar cuidadosamente el sobrenadante (*fase superior*) con la ayuda de una pipeta Pasteur estéril, *a ser posible completamente en una sola aspiración*, y alícuotar 0,5ml de este aspirado (*que corresponde al plasma sanguíneo*) en cada uno de los crioviales debidamente etiquetados e identificados.
7. Seguidamente almacenar los crioviales en cajas de crioalmacenaje y guardarlas en un congelador de -80°C.
8. Registrar la ubicación de la muestra guardada en el software de la Plataforma Biobanco Pulmonar.

8. REFERENCIAS, REGLAMENTOS Y DIRECTRICES APLICABLES

1. Declaration of Helsinki. <http://ohsr.od.nih.gov/helsinki.php3>
<http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>
2. Tri-Council Policy Statement; Ethical Conduct for Research Involving Humans; Medical Research Council of Canada; Natural Sciences and Engineering Council of Canada; Social Sciences and Humanities Research Council of Canada, August 1998. <http://www.pre.ethics.gc.ca/english/policystatement/policystatement.cfm>
3. Human Tissue and Biological Samples for use in Research. Operational and Ethical Guidelines. Medical Research Council Ethics Series. http://www.mrc.ac.uk/pdf-tissue_guide_fin.pdf
4. Best Practices for Repositories I. Collection, Storage and Retrieval of Human Biological Materials for Research. International Society for Biological and Environmental Repositories (ISBER). <http://www.isber.org>
5. National Bioethics Advisory Commission: Research involving human biological materials: Ethical issues and policy guidance, Vol. I: Report and recommendations of the National Bioethics Advisory Committee. August 1999. <http://bioethics.georgetown.edu/nbac/hbm.pdf>
6. US National Biospecimen Network Blueprint http://www.ndoc.org/about_ndc/reports/NBN_comment.asp
7. Blood Collection: Routine Venipuncture and Specimen Handling. <http://medlib.med.utah.edu/WebPath/TUTORIAL/PHLEB/PHLEB.html>