



## **Capítulo 10.2. Protocolo y recogida de muestras de saliva.**

### **Índice de contenidos**

1.	Introducción .....	2
2.	Material necesario .....	2
3.	Procedimiento previo a prueba.....	3
3.1.	Condiciones previas a la prueba.....	3
3.2.	Preparación de materiales.....	3
4.	Procedimiento día de prueba .....	3
4.1.	Instrucciones para obtener la muestra de saliva: .....	3
4.2.	Procesamiento de las muestras .....	4
4.3.	Transporte de las muestras .....	4
4.4.	Almacenamiento de las muestras .....	4
5.	Procedimiento post prueba .....	4
6.	Índice de anexos .....	5

## 1. Introducción

El objetivo principal de HEART-BRAIN (HB) es evaluar si un programa de intervención basado en entrenamiento interválico de alta intensidad (HIIT) o una combinación de este con un entrenamiento de fuerza con 3 meses de duración tiene un efecto en la salud cerebral en pacientes con cardiopatía isquémica estable en fase III de mantenimiento. Para ello se realizará la extracción de saliva en la sesión 4 de evaluación (junto a la sangre; ver “Capítulo 10.3. Protocolo y recogida de muestras de sangre”). Con este capítulo se quiere garantizar la correcta extracción, procesamiento, envío y almacenamiento central de las muestras de saliva. Si estas muestras no se recogen, procesan, manejan o almacenan correctamente, las extracciones realizadas pueden verse en peligro y considerarse inválidas. Las extracciones de saliva se realizarán en dos puntos temporales: al inicio (T1) y después de los 3 meses de intervención (T3). La extracción de saliva tendrá lugar en una sala del Hospital Virgen de las Nieves o en el IMUDS, habilitada para tal uso y será llevada a cabo por un investigador/a asociado del proyecto.

## 2. Material necesario



Bote de orina aséptico 120 mL



Etiquetas de impresora ZEBRA



Bolígrafos y rotuladores para etiquetado



Microtubos de 0.65 mL



Pipeta de 1 mL



Puntas para pipeta



Gradilla 9x9 para almacenar



Gradilla para tubos



Bata de laboratorio



Congelador -80°C



### **3. Procedimiento previo a prueba**

#### **3.1. Condiciones previas a la prueba**

Los participantes deben cumplir las condiciones previas que se les entregará de forma física en la sesión 3 y se recordarán por WhatsApp a lo largo de la semana de prueba.

#### **3.2. Preparación de materiales**

La persona encargada de la prueba deberá preparar tantos botes de orina asépticos como participantes acudan durante esa mañana a las evaluaciones (preparar alguno de repuesto) y 3 eppendorf de 1.5 mL por cada participante, en función de la organización y cálculos del equipo investigador. Esta persona tendrá que asegurar que todo el material se encuentra disponible para la prueba. Además, esta persona se encargará de imprimir/rotular las etiquetas que se pegarán en los eppendorf del participante en el formato “ID del participante asignado (mismo que sangre), el momento temporal y el número del eppendorf (1, 2 o 3)” con la nomenclatura adecuada (ej. Para pre- intervención 001\_1\_X/ para post-intervención 001\_3\_X). Para ello, utilizará un rotulador permanente y deberá ponerse guantes para evitar poder contaminar cualquier material contenido en el kit del participante.

### **4. Procedimiento día de prueba**

La persona encargada de realizar las extracciones de muestras de saliva tendrá habilitada una sala del Hospital Virgen de las Nieves.

1. Antes de la recogida, el/la investigador/a deberá tener los tubos etiquetados y el material necesario listo en el laboratorio.
2. Los tubos deberán estar colocados en el orden por el que serán utilizados.
3. Cada recogida de saliva requerirá que la persona encargada tenga la Check-list del proyecto HB, para asegurarnos que se realizan de forma correcta.
4. Será recogido 1 bote de saliva por participante.
5. El total de saliva recolectado en cada momento temporal será de aproximadamente 1.5 ml, solo contando con el líquido y no con la espuma.
6. El lugar donde se realizará la recogida de muestra bucal deberá estar limpio y desinfectado después de cada uso.
7. Los contenedores para los restos biológicos deben estar situados en la misma sala para poder tirar los restos y puntillas.

#### **4.1. Instrucciones para obtener la muestra de saliva:**

Para obtener la muestra de saliva no estimulada (aproximadamente 1 ml) se utilizará un bote de orina aséptico estéril de 120 ml tras un enjuague con agua de 2 minutos (después de escupir ese enjuague, la saliva que es generada es la que se vierte en el bote). Las muestras se recogerán a una hora constante del día para evitar los efectos diurnos y se mantendrán frías durante y



después de la recogida. Una vez finalizada la recogida y procesamiento de las muestras, se guardarán a  $-80^{\circ}$ .

#### 4.2. Procesamiento de las muestras

El contenido de la misma debe ser repartida en 3 eppendorf. **Cada alícuota tiene que ser de 0.5 mL.** Una vez rellenados los tres eppendorf, guardarlos en la gradilla correspondiente a  $4^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.3. Transporte de las muestras

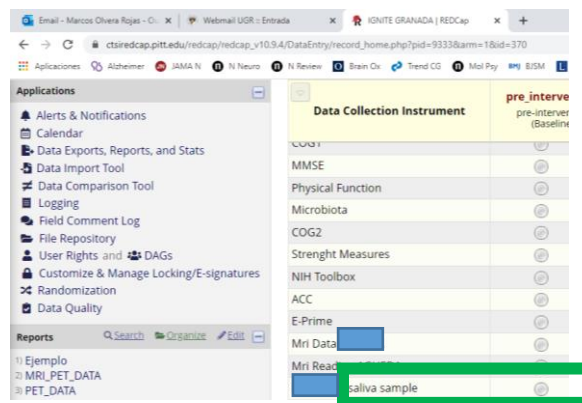
La gradilla con todas las muestras de ese día se transportará mediante el/la investigador/a a cargo a el congelador destinado para ello en el iMUDS donde permanecerán congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

#### 4.4. Almacenamiento de las muestras

Una vez que estén en el iMUDS, se le asignará un lugar específico que quedará recogido en el Anexo 10.2. Gestión de muestras saliva

### 5. Procedimiento post prueba

Una vez finalizado todo el proceso de recogida, transporte y almacenamiento de las muestras nos redirigiremos a la plataforma REDCAP. Dentro de REDCAP seleccionaremos el participante del que deseamos introducir datos y nos dirigiremos a la variable de “*blood and saliva sample*”



A continuación, para confirmar que el/la participante ha completado la prueba de saliva, introduciremos la fecha en el siguiente apartado y **daremos por finalizado el proceso.**

Date of Blood Collection	<input type="text"/>	Today	D-M-Y	Cancel
Date of Saliva Collection	<input type="text"/>	Today	D-M-Y	
Was Blood Draw Attempted?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No			
Arrival time of blood to lab	<input type="text"/>	Now	D-M-Y H:M	
Time of the last (Yellow serum) sample carried to freezer (-80)	<input type="text"/>	Now	D-M-Y H:M	
Sample position in box of freezer	<input type="text"/>			
Were the data received from the hospital?	<input type="radio"/> Yes <input type="radio"/> No			
How many defrosting cycles?	<input type="text"/>			



## 6. Índice de anexos

- Anexo 10.2. Gestión de muestras saliva (excel de gestión interna, no accesible públicamente).