

Capítulo 11.3. Extracciones sanguíneas

Índice

1. Introducción	2
2. Material necesario	2
2.1. Material para extracción.....	2
2.2. Material para el alicuotado	2
3. Procedimiento previo a prueba	3
4. Procedimiento día de prueba.....	3
5. Procedimiento posterior a prueba.....	3
5.1. Centrifugado.....	3
5.2. Alicuotado	4
5.3. Almacenamiento.....	4
6. Índice de Anexos	4

1. Introducción

Uno de los objetivos planteados en el estudio AGUEDA es investigar los efectos que tiene un programa de ejercicio realizado durante 6 meses en biomarcadores sanguíneos, así como examinar si los cambios en dichos marcadores median los cambios cerebrales a nivel estructural y funcional. Para ello se realizará la extracción de sangre en la sesión 4 de evaluación (en la que también se podría realizar la prueba PET; ver **Capítulo 18. Análisis de PET**). Con este capítulo se quiere garantizar la correcta extracción, procesamiento, envío y almacenamiento central de las muestras de sangre. Si estas muestras no se recogen, procesan, manejan o almacenan correctamente, las extracciones realizadas pueden verse en peligro y considerarse inválidas. Las extracciones de sangre se realizarán en tres puntos temporales: al inicio (T1), a los 3 meses de intervención (T3) y después de los 6 meses de intervención (T6).

La extracción sanguínea tendrá lugar en una sala del Hospital Virgen de las Nieves, habilitada para tal uso y será llevada a cabo por una enfermera. Es imperativo seguir estrictamente el protocolo de rotulado, centrifugado y alicuotado para asegurar que todas las muestras reciben un tratamiento similar, asegurar un transporte y conservación óptimo de las mismas.

2. Material necesario

2.1. Material para extracción

- Guantes
- Rotuladores permanentes y bolígrafos
- Bata de laboratorio
- En caso de necesitar algún vacutainer adicional específico, estos son los que serán usados (ver Figura 1):
 - Vacutainers amarillos: SUERO, volumen 5mL. Al menos 1 caja de vacutainers amarillos disponibles.
 - Vacutainers morados: EDTA K3, volumen 4mL. Al menos 1 caja de vacutainers morados disponible.
 - Vacutainers azules: CITRATO, volumen 4.5mL. Al menos 1 caja de vacutainers azules disponibles.
 - Eppendorf AM7022, solución de estabilización RNA-later, volumen 1.5mL. Al menos 1 caja de 50 disponible.



Figura 1. Vacutainers necesario para el proyecto AGUEDA

2.2. Material para el alicuotado

- Tubos Eppendorfs de 1,5 mL ya rotulados.
- Pipetas de 200 y 1000 uL (sólo las habilitadas para sangre y tejidos).

- Cajas de puntas de 200 uL: una bolsa completa de puntas extra.
- Cajas de puntas de 1000 uL: una bolsa completa de puntas extra.
- Gradilla para tubos de sangre para almacenamiento en cámara fría/frigorífico/congelador.
- Cajas para los tubos Eppendorf: cajas de plástico del proyecto, con el número de caja en cada caso (Caja 1, 2...) que se encuentran dentro del congelador. Será necesario tener abierto el documento “gestión de muestras de sangre” que se encuentra en la carpeta 11.3. Muestras de sangre para ver en qué posición se encuentra cada caja.

3. Procedimiento previo a prueba

Los participantes deben cumplir las condiciones previas descritas en el **Anexo 2.5. Condiciones previas Sesión4** las cuales se les entregará de forma física en la sesión 3 y se les avisará con un mínimo de un día de antelación.

Las extracciones sanguíneas las realizará una enfermera del Hospital Virgen de las Nieves. El material necesario será el relativo al rotulado y transporte de las muestras citado en el apartado anterior.

4. Procedimiento día de prueba

La enfermera encargada de realizar las extracciones (Yolanda) sanguíneas tendrá habilitada una sala en la Unidad de Medicina Nuclear del Hospital Virgen de las Nieves, y se seguirán las consideraciones citadas a continuación:

1. Antes de la extracción, la enfermera deberá tener los 10 vacutainers (3 azules, 2 amarillos, 5 morados, 1 PAXgene), y el material necesario listo.
2. Adicionalmente, la enfermera recolectará la sangre correspondiente a los análisis de rutina que se realizarán en el hospital
3. El total de sangre recolectado en cada momento temporal será de aproximadamente 50 ml.
4. El evaluador del proyecto debe completar el **Anexo 11.3 Gestión muestras de sangre**
5. **Los 10 vacutainers restantes** se procesarán en el laboratorio habilitado en el hospital y las muestras se llevarán al congelador situado en el mismo laboratorio una vez pipeteadas.
6. Posteriormente se etiquetará cada uno de los tubos de acuerdo al procedimiento siguiente:

El evaluador se encargará de rotular en los botes de cada participante: el “ID del participante, p.e., sería 100 para un participante. Para ello, utilizará un rotulador permanente y deberá ponerse guantes para evitar poder contaminar cualquier material contenido en el kit del participante.

5. Procedimiento posterior a prueba

Como las extracciones se realizarán en el Hospital Virgen de las Nieves, las muestras serán analizadas y almacenadas en el hospital. De la sangre extraída de los participantes, 3 vacutainer morados, 3 azules y 2 amarillos (Después de que la sangre se haya coagulado) se centrifugarán.

5.1. Centrifugado

Se utilizará la centrifugadora que se encuentra en el laboratorio contiguo a las extracciones sanguíneas en la Unidad de Medicina Nuclear. Si al encenderla existe algún problema de electricidad será necesario revisar los plomos que se encuentran en el mismo laboratorio. Si el problema persiste contactar con el responsable de ÁGUEDA en la extracción o con Cristián

La centrifugadora se colocará a 2000g a 4° y con un total de tiempo de 10 minutos para el centrifugado de **TODOS** los vacutainers.

5.2. Alicuotado

Se deben alicuotar los **botes amarillos (suero)**, los **botes azules (plasma)** y los **botes morados (plasma)** en EPPENDORFS. Para ello, se utilizará un ordenador portátil con acceso a la carpeta compartida del proyecto para acceder al **ANEXO 11.3 Gestión muestras de sangre** donde se introducirá la hora a la que los eppendorf de cada bote entran en el congelador y si alguno de ellos está hemolizado o está relleno de forma parcial.

Para obtener una información más extensa acerca de estos procedimientos revisar los **ANEXOS 11.3 Procesamiento y 11.3 de vacutainers específicos**.

5.3. Almacenamiento

Los Eppendorfs serán almacenadas en el congelador situado en el mismo laboratorio de la Unidad de Medicina Nuclear del Hospital Virgen de las Nieves. Cada eppendorf etiquetado tiene una ubicación dentro del congelador en una determinada caja. Para ver qué caja le corresponde según su etiqueta, revisar en el **ANEXO 11.3 Gestión muestras de sangre**, la ubicación de la caja en el congelador.

Para cada participante del proyecto AGUEDA, por cada momento temporal, tendremos almacenado en el congelador los siguientes ítems:

1. **40 eppendorfs básicos de 1ml.**
2. **1 vacutainer PAXgene**

Es imperativo que el Excel (**ANEXO 11.3. Gestión muestras de sangre**), esté completamente **actualizado** al finalizar la prueba.

En el **Anexo 11.3.3. Biomarcadores** manuel se ven los biomarcadores elegidos para el estudio AGUEDA y es importante tenerlo en cuenta para el tratamiento posterior de las muestras. La lista de analitos anterior es una propuesta de "lista de deseos". Los ítems en esta lista pueden actualizarse, cambiarse o eliminarse dependiendo de la cantidad de sangre almacenada o de los avances científicos en el área.

6. Índice de Anexos

- Anexo 11.3.1. Procesamiento
- Anexo 11.3.2. Vacutainer Morado
- Anexo 11.3.3. Vacutainer Azul
- Anexo 11.3.4. Vacutainer Amarillo
- Anexo 11.3.5. Vacutainer PAXgene