

Procesamiento Vacutainer Morados

Consideraciones importantes:

1. **Registre la hora** a la que los vacutainer llegan al laboratorio.
2. Existirán 5 vacutainer morados de 4 ml.
3. Estos vacutainer son los que se deberán procesar en primer lugar.

Paso 1: Procesamiento de 4 vacutainers morados de 4 ml

1. Coloque el tubo en la centrifuga durante 10 minutos a 2000 g a 4°.
2. Mientras las muestras se centrifugan, preparar los 16 eppendorf (previamente etiquetados) en las gradillas para el posterior pipeteo.
3. Retire los tubos de la centrifuga. **NOTA: NO ALTERE LA CAPA BUFFY COAT** (la capa celular blanquecina / turbia debajo del plasma que contiene las PBMC (linfocitos y monocitos) durante este proceso.
4. Todo el material de este tubo será alicuotado de la siguiente manera:
 - a. Plasma:
 - i. Coloque alícuotas de **500 µL de plasma** en los **12 eppendorf** con etiquetas color púrpura (ej. 101_1_PP1, del participante 101, el tiempo 1 Purple plasma, en el caso del tiempo post intervención se debe etiquetar con el número 6, ej. 101_6_PP) y colóquelos inmediatamente en la caja para su inmediata refrigeración. La ubicación de cada eppendorf en la caja transparente quedará registrada en el Excel de gestión de muestras de sangre.
 - b. Linfocitos (BUFFY COAT)
 - i. Coloque cuidadosamente en **un único eppendorf** (con etiqueta de color verde, ej. 101_1_PL de Purple lymphocytes) la capa de linfocitos (buffy coat) de los 4 vacutainer morados centrifugados. La ubicación de cada eppendorf en la caja transparente quedará registrada en el Excel de gestión de muestras de sangre.
 - c. Eritrocitos
 - i. Coloque alícuotas de **1000 µL** de eritrocitos en los **4 eppendorf** con etiquetas color naranja (ej. 101_1_PE1, del participante 101, el tiempo 1 Purple erythrocytes, en el caso del tiempo post intervención se debe etiquetar con el número 6, ej. 101_6_PE) y colóquelos inmediatamente en la caja para su inmediata refrigeración. La ubicación de cada eppendorf en la caja transparente quedará registrada en el Excel de gestión de muestras de sangre.

Paso 3: Procesamiento del vacutainer morado de 4 ml restante. **NO CENTRIFUGAR!!**

1. Coloque alícuotas de 500 µL de sangre completa en los **6 eppendorf** con etiquetas de color rojo (ej. 101_1_PB, del participante 101, el tiempo 1 Purple blood, en el caso del tiempo post intervención se debe etiquetar con el número 6, ej. 101_6_PB1) y colóquelos inmediatamente en la caja para su inmediata refrigeración. La ubicación de cada eppendorf en la caja transparente quedará registrada en el Excel de gestión de muestras de sangre.

Importante: problemas que pueden surgir

- **Volumen de muestra bajo:** si no hay suficiente muestra de un tipo de muestra en particular para llenar el conjunto completo de alícuotas, llene tantos eppendorf como sea posible. Si alguna alícuota es menor que el volumen especificado, anótelos como un volumen parcial (P). en el Excel de gestión de muestras de sangre
- **Muestra hemolizada:** si algo del suero o plasma está hemolizado (de color rosa o rojo debido a la alteración de los glóbulos rojos), anótelos como muestra hemolizada (H) en el Excel de gestión de muestras de sangre.