

CAPÍTULO 3

CRITERIOS DE TRABAJO SEGÚN LA MUESTRA Y EL ESTUDIO DESTINADO

CRITERIOS DE TRABAJO SEGÚN LA MUESTRA Y EL ESTUDIO DESTINADO

Salvador Martí Pérez

Carol Abril Tomo

Anna Bosch Comas

Coordinadora del capítulo: Clara Rodríguez Ayerbe

INTRODUCCIÓN

El creciente desarrollo de colecciones biológicas y biobancos han facilitado a los investigadores el acceso a gran cantidad de muestras biológicas. Éstas contienen información de características del donante y son de utilidad para el desarrollo de gran variedad de análisis de laboratorio e investigaciones biomédicas en genómica, proteómica y metabolómica, así como para el desarrollo de aplicaciones diagnósticas y sanitarias.

La estabilidad de la muestra influenciará en gran medida los resultados obtenidos de los análisis en los laboratorios. Es decir, la capacidad de la muestra para mantener las características cuantitativas y cualitativas de los parámetros biológicos a analizar va a determinar que el resultado obtenido en el laboratorio sea equiparable o no al del momento de obtención de la muestra. Por ello, la organización y el desarrollo de métodos y procedimientos adecuados para garantizar la estabilidad de la muestra, así como el conocimiento de los posibles usos analíticos de esas muestras, son uno de los aspectos fundamentales de los biobancos.

El principal material biológico humano que se recibe en los biobancos es sangre periférica de donantes sanos y pacientes afectados de algún tipo de patología. La recepción de estas muestras en muchos casos no se realiza inmediatamente después de su extracción sino que tarda varias horas en llegar hasta el laboratorio para su procesamiento. La sangre contiene componentes que son especialmente lábiles y necesitan de algún tipo de aditivo o agente estabilizante que garantice la estabilidad de la muestra durante la fase preanalítica, es decir, hasta su llegada y procesamiento en el laboratorio.

Para preservar las muestras de sangre y sus derivados, desde su extracción hasta su procesamiento en el laboratorio, se pueden utilizar diferentes tipos de aditivos. Éstos son sustancias que, además de preservar la muestra de sangre o alguno de sus componentes, facilitan su manipulación y su posterior análisis en el laboratorio. Los aditivos difieren en su mecanismo de acción y deben ser elegidos cuidadosamente para evitar en lo posible alteraciones en la muestra y variaciones artificiales *in vitro* que alteren los parámetros a analizar. Además,

determinados aditivos pueden estar perfectamente indicados o ser incluso requeridos para determinados análisis o técnicas de laboratorio, mientras que otros pueden ser inapropiados, por lo que la elección del aditivo vendrá determinada por el destino de la muestra. Así pues, una de las principales decisiones a la hora de realizar una toma de muestra de sangre es si necesitaremos utilizar algún tipo de aditivo y, en caso afirmativo, cuál es el más apropiado para el ensayo a realizar.

Para mantener la estabilidad de la muestra durante el tiempo que transcurre entre la obtención de la muestra hasta su procesado en el laboratorio pueden utilizarse distintos tipos de aditivos.

Los más utilizados son:

- I.- Anticoagulantes
- II.- Agentes estabilizantes
- III.- Gel separador del suero

ADITIVOS UTILIZADOS EN LA TOMA DE MUESTRAS DE SANGRE

I. ANTICOAGULANTES

Los anticoagulantes son sustancias químicas que impiden o retrasan la coagulación de la sangre de manera que facilitan además de la manipulación, el fraccionamiento de la sangre y el análisis de la muestra. Las características básicas de los anticoagulantes son:

- No alterar el tamaño de los hematíes
- No producir hemólisis
- Evitar al máximo la agregación plaquetaria
- No alterar la morfología de los leucocitos
- Conservar la muestra

Los anticoagulantes más comúnmente usados en la toma de muestras de sangre para distintos análisis y técnicas de laboratorio son los siguientes:

1. EDTA
2. HEPARINA
3. CITRATO
4. Otros anticoagulantes con CITRATO: ACD, CPD, CPDA

1. EDTA

El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) ($C_{10}H_{16}N_2O_8$): libre, en forma de sal disódica (Na_2EDTA), di- o tripotásica (K_2EDTA - K_3EDTA), actúa mediante un efecto quelante sobre el calcio (Ca^{2+}). Al fijarlo, impide la activación de la trombina (protrombina), la conversión del fibrinógeno en fibrina y, por tanto, la coagulación sanguínea. Las sales de potasio tienen la ventaja con respecto a la de sodio, de ser más solubles en sangre. En cuanto a la diferencia entre el K_2EDTA

y el K_3EDTA , es tan escasa, en cuanto a los valores obtenidos en las distintas magnitudes biológicas, que se considera que su uso indistinto no altera en nada los resultados.

El EDTA es un anticoagulante que proporciona muestras útiles para un amplio rango de análisis de laboratorio, análisis bioquímicos, de biología molecular (ADN, ARN, microARN...), proteómica, etc. Además, también se utiliza para el estudio cuantitativo de células sanguíneas, tanto para su recuento y estudio de su morfología (hemograma) como para el estudio inmunohematológico (grupo sanguíneo, pruebas de compatibilidad, etc.). Por ello, si en el momento de obtención de la muestra de sangre se desconoce qué tipo de derivado va a obtenerse (plasma, células mononucleares de sangre periférica (CMSP), ADN...) o a qué tipo de ensayo se va a destinar, se recomienda recoger la muestra con EDTA.

Ventajas:

Respeto la morfología eritrocitaria (especialmente la sal tripotásica) y leucocitaria. Además, inhibe la agregación de las plaquetas.

Desventajas:

Usado en exceso afecta a los eritrocitos y a los leucocitos, a los cuales les produce encogimiento y cambios de forma. Por ello, debe agregarse la cantidad correcta de sangre; su defecto provoca la formación de coágulos. Además, el EDTA está cargado negativamente y forma complejos solubles con iones metálicos. Se desaconseja para ensayos que incluyan cationes divalentes como Mg^{2+} y Ca^{2+} . El EDTA, también plantea problemas para los análisis citogenéticos ya que impide la formación del huso acromático en la mitosis.

Conservación

En general, el EDTA asegura la conservación de los elementos sanguíneos durante 24 h si la sangre se mantiene a 4° C. Sin embargo, dependiendo del tipo del componente sanguíneo que se desee obtener, la sangre con EDTA debe conservarse a diferente temperatura.

Si ha de obtenerse plasma, la muestras sangre-EDTA ha de centrifugarse antes de 3 h desde su extracción. A temperatura ambiente no cabe esperar modificación alguna de los metabolitos y enzimas durante las primeras 3h. Ante la imposibilidad de centrifugar la sangre-EDTA se recomienda mantener la muestra a 4°C. El tiempo de almacenamiento máximo dependerá de los parámetros a medir. Una vez centrifugada la muestra puede mantenerse a -20°C o -80°C (ver tabla 1).


En el caso de muestras destinadas a ADN se acepta un tiempo de conservación de hasta 24 h a 4°C. Si fuera necesario congelar la muestra está no debería exceder 1 mes a -20°C ó 6 meses a -80°C. En cualquier caso, el ADN es una molécula altamente estable y es posible recuperar muestras incluso cuando la sangre se ha conservado en condiciones subóptimas.

Para obtener ARN de muestras de sangre-EDTA lo idóneo es procesar la muestra en un tiempo inferior a los 30 min. Aunque puede ser aceptable un tiempo de conservación de 24 h a 4°C. En caso de no poder procesar la muestra en estas

condiciones se recomienda utilizar agentes estabilizadores de ARN (tubos PAXGene, Tempus Blood RNA, RNA Later).

Si se requiere una alta viabilidad celular es necesario procesar la muestra antes de las 24-48 h de su extracción ya que la viabilidad celular decrece rápidamente después de las 48 h.

APLICACIONES

Anticoagulante	DERIVADO HEMÁTICO	Transporte y conservación de la sangre				Técnica recomendada	Técnica no recomendada
		TA	4°C	-20°C	-80°C		
EDTA (K ₂ EDTA) (K ₃ EDTA) 	Plasma	3 h	variable			Cromatografía	Ensayos con cationes divalentes Mg ²⁺ y Ca ²⁺ Pruebas enzimáticas Pruebas bioquímicas
	ADN	12 h	24 h	1 m	6 m	MPLA Secuenciación Southern blot PCR	Ensayos citogenéticos
	ARN	30 min	24 h			Secuenciación Northern blot Integridad ARN RT-PCR	
	CMSP	4 h	24 h			Hemograma Cultivo CMSP	
	Eritrocitos	12 h	24 h			Estudios morfológicos	
	Plaquetas	12 h					

TA: Temperatura ambiente; min: minutos; h: horas; d: días; m: meses

2.- HEPARINA

La heparina es una mezcla de glicosaminglicanos con un número variable de residuos que les dan cargas negativas. La encontramos como sal sódica, potásica, de amonio o de litio. Inhibe la activación de protrombina a trombina, y por lo tanto, evita la formación de fibrina a partir de fibrinógeno. Normalmente la heparina con litio se utiliza para estudios bioquímicos, para la obtención de CMSP e inmortalización celular y la heparina sódica en recuento celular. Además, la heparina es el anticoagulante utilizado en las gasometrías.

Ventajas:

No altera el tamaño de los eritrocitos. Es el mejor anticoagulante para reducir al mínimo la hemólisis.

Desventajas:



Entre las alteraciones que produce se encuentra la degeneración nuclear de los neutrófilos y no es apta para estudios de inmunohematología y test de Coombs. Además, al ser una molécula muy cargada, su presencia en una solución puede competir con la unión de ciertas moléculas a superficies cargadas. Esto interfiere

en pasos importantes de la adsorción de proteínas a chips. También puede interferir en ciertos procesos de afinidad (ej. Análisis de SELDI-TOF).

Conservación

Al igual que con las muestras recogidas en EDTA, la sangre en heparina que se dedique a la extracción de plasma debe procesarse lo más rápidamente posible, idealmente en menos de 3h si se mantiene a temperatura ambiente. Para otros derivados hemáticos como ARN, CMSP o eritrocitos se puede conservar la muestra hasta 24h en condiciones refrigeradas. En el caso de muestras destinadas a la obtención de ADN la muestra de sangre y heparina puede conservarse meses en condiciones de congelación. Para la obtención y cultivo de CMSP, las muestras recogidas en Heparina de Litio se pueden conservar 2 días a temperatura ambiente.

APLICACIONES

Anticoagulante	DERIVADO HEMÁTICO	Transporte y conservación de la sangre				Técnica recomendada	Técnica no recomendada
		TA	4°C	-20°C	-80°C		
HEPARINA SODICA 	Plasma	3 h	variable	variable		Determinación de Oligoelementos	Espectrometría de masas- SELDI-TOF
	ADN	12 h	24 h	1 m	6 m		PCR
	ARN	30 min	24 h				
	CMSP	2 h	24 h			Recuento celular	Proliferación de células T Estudios de inmunohematología. Test de Coombs. Tinciones citoquímicas.
	Eritrocitos	12 h	24 h				
	Plaquetas	12 h					
HEPARINA LITIO 	Plasma	4 h	variable	variable		Estudios bioquímicos	Espectrometría de masas- SELDI-TOF
	ADN	12 h	24 h	1 m	6 m	Estudios funcionales	
	ARN	30 min	24 h				
	CMSP	2 d				Cultivo de CMSP	
	Eritrocitos	12 h	24 h				
	Plaquetas	12 h					

TA: Temperatura ambiente; min: minutos; h: horas; d: días; m: meses

3.- CITRATO

El citrato trisódico ($C_6H_5O_7Na_3$) actúa impidiendo que el calcio se ionice, evitando así la coagulación. La proporción es una parte de 3.8 ó 3.2 % de solución acuosa y 9 partes de sangre total. El citrato es el anticoagulante preferido para la toma de plasma para pruebas de coagulación y de plaquetas para pruebas de función plaquetaria.

Ventajas:

Aunque retiene el calcio, su efecto se revierte fácilmente cuando se añade calcio.


Desventajas

El inconveniente que presenta es que produce contracción eritrocitaria. Además, al ser una solución acuosa, diluye el plasma. No sirve para ver la morfología celular, ya que desarrolla con rapidez hemáties dentados y artefactos y deformación en las células sanguíneas. Tampoco es adecuado para las determinaciones bioquímicas ni determinaciones electrolíticas por llevar Na y K.

Conservación

El tiempo máximo entre la extracción de la sangre y su procesamiento depende del destino final de la muestra. En general, la sangre tratada con citrato mantenida a temperatura ambiente se debe procesar lo antes posible. Para el análisis de coagulación no debe exceder de las 4 h. A 4°C puede mantenerse entre 6-8 horas. Para el cultivo de CMSP puede mantenerse a 4°C durante 24 h.

APLICACIONES

Anticoagulante	DERIVADO HEMÁTICO	Transporte y conservación de la sangre				Técnica recomendada	Técnica no recomendada
		TA	4°C	-20°C	-80°C		
CITRATO TRISÓDICO 	Plasma	4h	6 h			Ensayos de coagulación	Inmunoensayo
	ADN	12 h	24 h	1 m	6 m		
	ARN	30 min	24 h				
	CMSP	4 h	24 h			Cultivo de CMSP	
	Eritrocitos	12 h	24 h			sedimentación de hemáties	
	Plaquetas	12 h				Recuento de plaquetas y función plaquetaria	

TA: Temperatura ambiente; min: minutos; h: horas; d: días; m: meses

4.- Otros anticoagulantes con CITRATO: ACD, CPD, CPDA

• **ACD**

El ACD es un anticoagulante formado por la mezcla de tres compuestos (ácido cítrico, citrato de sodio y dextrosa). Dependiendo de la proporción tenemos:

- a) ACD-A, que contiene un volumen de solución A que consiste en citrato de sodio 22.0 g/l, ácido cítrico 8.0 g/l y dextrosa 24.5 g/l.
- b) ACD-B, que contiene un volumen de solución B que consiste en citrato de sodio 13.2 g/l, ácido cítrico 4.8 g/l y dextrosa 14.7 g/l.

El citrato actúa como anticoagulante por ser quelante de los iones calcio. La dextrosa proporciona un sustrato para la glucólisis durante el almacenamiento, extendiendo así el tiempo de vida de los eritrocitos. La proporción de ácido cítrico y citrato de sodio es tal que el pH resulta óptimo para la conservación de la sangre entera.

El ACD se utiliza fundamentalmente para la obtención de CMSP y realizar la immortalización de linfocitos B mediante el virus de Epstein-Barr. Son muy utilizados para bancos de sangre y en Pruebas de histocompatibilidad.

- **CPD**

Contiene citrato, fosfato y dextrosa. Estabiliza el pH de la sangre en valores cercanos a 7,1 durante el periodo de almacenamiento, lo que permite que los componentes celulares continúen su metabolismo. Por otro lado, el fosfato presente en la solución anticoagulante permite mantener las reservas de ATP, lo que se traduce en una mayor estabilidad de la membrana celular y por último conserva los niveles elevados de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), lo que disminuye la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno facilitando su liberación en los tejidos. La sangre anticoagulada con CPD se conserva hasta los 28 días.

- **CPDA**

- a) CPDA-1: Esta solución anticoagulante contiene más glucosa que el CDP. Además contiene adenina, que es utilizada por el hematíe para sus reservas de nucleótidos, prolongando por más tiempo la estabilidad de la membrana celular.
- b) CPDA-2: Es una fórmula mejorada del CPDA-1. Tiene mayor concentración de dextrosa y adenina.

Ventajas:

Permite una buena conservación de los hematíes e inhibe la agregación plaquetaria, por la reducción del pH.

Desventajas:

Son anticoagulantes líquidos, por lo que diluyen la muestra y están especialmente desaconsejados para estudios con plasma.

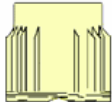


Conservación

La fecha de vencimiento de la sangre entera anticoagulada con solución ACD es de 21 días. Si la sangre se conserva con CPDA-1 tiene una viabilidad de 35 días. Y si el anticoagulante utilizado es el CPDA-2 se ha observado que la Sangre total puede conservarse por 49 días, mientras que los concentrados de hematíes se conservan durante 42 días.

Para la extracción de ARN los tubos con ACD deben transportarse al laboratorio lo antes posible. Si no pueden procesarse inmediatamente, pueden mantenerse a temperatura ambiente (10-22 °C) como máximo 24h desde la extracción.

Para la obtención y cultivo de CMSP la sangre se podría mantener a temperatura ambiente hasta cuatro días.

APLICACIONES

Anticoagulante	DERIVADO HEMÁTICO	Transporte y conservación de la sangre				Técnica recomendada	Técnica no recomendada
		TA	4°C	-20°C	-80°C		
<p>ÁCIDO CÍTRICO, CITRATO DE SODIO, DEXTROSA (ACD)</p> 	Plasma						Estudios de plasma
	ADN	12 h	24 h	1 m	6 m		
	ARN	30 min	24 h			- Secuenciación Northern blot - Integridad ARN - RT-PCR	
	CMSP	4 d				- Cultivo CMSP - Pruebas de Histocompatibilidad - Estudios morfológicos	
	Eritrocitos		21 d			- Estudios metabólicos eritrocitarios - Conservación de los hematíes - Para determinar el grupo sanguíneo - Estudios morfológicos	
	Plaquetas						
<p>CITRATO, FOSTATO, DEXTROSA (CPD)</p> 	Plasma						Estudios de plasma
	ADN	12 h	24 h	1 m	6 m		
	ARN	30 min	24 h			- Secuenciación Northern blot - Integridad ARN - RT-PCR	
	CMSP	4 d				Estudios morfológicos	
	Eritrocitos		35 d			- Estudios metabólicos eritrocitarios - Conservación de los hematíes - Estudios morfológicos	
	Plaquetas						
<p>CITRATO, FOSTATO, DEXTROSA, ADENINA (CPDA)</p> 	Plasma						Estudios de plasma
	ADN	12 h	24 h	1 m	6 m		
	ARN	30 min	24 h			- Secuenciación Northern blot - Integridad ARN - RT-PCR	
	CMSP	4 d				Estudios morfológicos	
	Eritrocitos		42 d			- Estudios metabólicos eritrocitarios - Conservación de los hematíes - Para determinar el grupo sanguíneo - Estudios morfológicos	
	Plaquetas						

TA: Temperatura ambiente; min: minutos; h: horas; d: días; m: meses

II. AGENTES ESTABILIZANTES

Este tipo de aditivos tiene como misión preservar un determinado componente sanguíneo. Unos de los estabilizantes más utilizados para la toma de muestras para investigación son los agentes estabilizantes de ARN.

1.- Agente estabilizante del ARN

Es un aditivo que estabiliza el perfil de transcripción génica, reduciendo la degradación del ARN *in vitro* y minimizando la inducción génica.

Ventajas:

Estabiliza el ARN intracelular. Minimiza las variables preanalíticas y estabiliza todo el proceso en el análisis de ARN.

Desventajas:

La sangre obtenida sólo puede utilizarse para la obtención de ARN.

Conservación

Tanto los tubos de Paxgene como de Tempus blood RNA o RNA later pueden mantenerse varios días a temperatura ambiente ó 4°C. Además pueden conservarse durante años congelados a -20°C ó -80°C.

APLICACIONES

ADITIVO	DERIVADO HEMÁTICO	Transporte y conservación de la sangre				Técnica recomendada	Técnica no recomendada
		TA	4°C	-20°C	-80°C		
PAXGene (PreAnalytix)	ARN	2-72 h	2-3 d		50 m	Obtención de ARN	Obtención de ADN Biología Celular
Tempus Blood RNA	ARN	5 d	7 d	años	años		
RNA Later (Ambion)	ARN	7 d	1 m	años			

TA: Temperatura ambiente; h: horas; d: días; m: meses

III. GEL SEPARADOR DEL SUERO

El suero es el componente de la sangre que resulta tras eliminar el coágulo sanguíneo. Es decir, el suero es similar al plasma sanguíneo sin las proteínas de la coagulación, fibrinógeno principalmente.

Para la obtención de suero generalmente se utilizan tubos sin aditivos, aunque en algunos casos sí contienen activadores que facilitan la retracción del coágulo. También pueden contener un gel separador que facilita la separación de suero y el coágulo tras la centrifugación.

Una vez extraída la sangre se producen una serie de procesos que pueden alterar algunos parámetros bioquímicos. Entre otros, por ejemplo, si transcurre mucho tiempo entre la toma de la muestra de sangre total y la separación del suero, la glucólisis que ocurre en la sangre total provocará una disminución de la concentración sérica de la glucosa en suero. También se producen procesos proteolíticos e hidrolíticos que provocan un aumento de la concentración de amoníaco. Por ello, debe separarse el suero a los 30 min de la obtención, siempre que el coágulo se haya formado.

Una vez extraída la sangre, se deja reposar, al menos 30 min a temperatura ambiente, para que se forme el coágulo y, posteriormente, mediante centrifugación, obtenemos el suero.

Ventajas:

Facilidad para la obtención del suero

Desventajas:


Generalmente no se puede aprovechar la fase celular ni la fase roja de la sangre

Conservación

El suero debe separarse del contacto con las células tan pronto como sea posible. Se recomienda un límite máximo de 2 h a partir del momento de recolección. El suero separado debe permanecer a temperatura ambiente no más de 8 h. Si los ensayos no se han determinado dentro de 8 h el suero debe refrigerarse a 4°C. En caso de que la muestra separada deba conservarse más de 48 h, el suero debe congelarse a -20°C ó -80°C

Un método ideal para almacenar suero incluye su rápida congelación a -80°C; sin embargo, para la mayoría de sustancias el almacenamiento a -20°C en un periodo de hasta 6 semanas no conducirá a ninguna variación clínicamente importante.

APLICACIONES

ADITIVO	DERIVADO HEMÁTICO	Transporte y conservación de la sangre				Técnica recomendada	Técnica no recomendada
		TA	4°C	-20°C	-80°C		
Sin gel	SUERO	2 h				Bioquímica Metabolismo del hierro	Obtención de ADN Biología Celular
Gel separador del suero 	SUERO	2 h				Inmunología Toxicología Inmunoensayo	

TA: Temperatura ambiente; h: horas; d: días; m: meses

TABLA 1. Condiciones de obtención y conservación de la muestra de acuerdo al tipo de estudio que se pretende realizar

CAMPO DE APLICACIÓN	TÉCNICA	Aditivo Recomendado	Transporte y conservación de la sangre				TIPO DE MUESTRA OBTENIDA	Conservación de la muestra					Aditivo no recomendado
			TA	4°C	-20°C	-80°C		TA	4°C	-20°C	-80°C	NL	
BIOLOGÍA CELULAR	CULTIVO CMSP	EDTA	4 h	24 h			CMSP				1 año	indefinido	
		HEPARINA de LITIO	2 d										
		CITRATO	4 h	24 h									
		ACD/CPD/CPDA	4 d										
	ERITROCITOS	ACD		21 d			ERITROCITOS				años	indefinido	CITRATO
		CPD		35 d									
		CPDA		42 d									
ACTIVACION PLAQUETAS	CITRATO	60 min				PLAQUETAS							
ANÁLISIS ADN	MICROARRAY GENOTIPADO SNP SOUTHER BLOT	EDTA	12 h	24 h	1 m	6 m	ADN		1 año	indefinido	indefinido		
		CITRATO											
		ACD											
		HEPARINA											
	PCR MPLA SECUENCIACIÓN	EDTA	12 h	24 h	1 m	6 m	ADN		1 año	indefinido	indefinido		HEPARINA
		CITRATO											
		ACD											
ANÁLISIS ARN	SECUENCIACIÓN NOTHER BLOT INTEGRIDAD ARN RT-PCR	EDTA	30 min	24 h			ARN / microRNA			indefinido	indefinido		
		ACD/CPD/CPDA	24 h	24 h									
		TEMPUS BLOOD RNA	5 d	7 d	años	años							
		PAXGENE	2-72 h	2-3 d		años							
		RNA LATER	7 d	1 m	años	años							

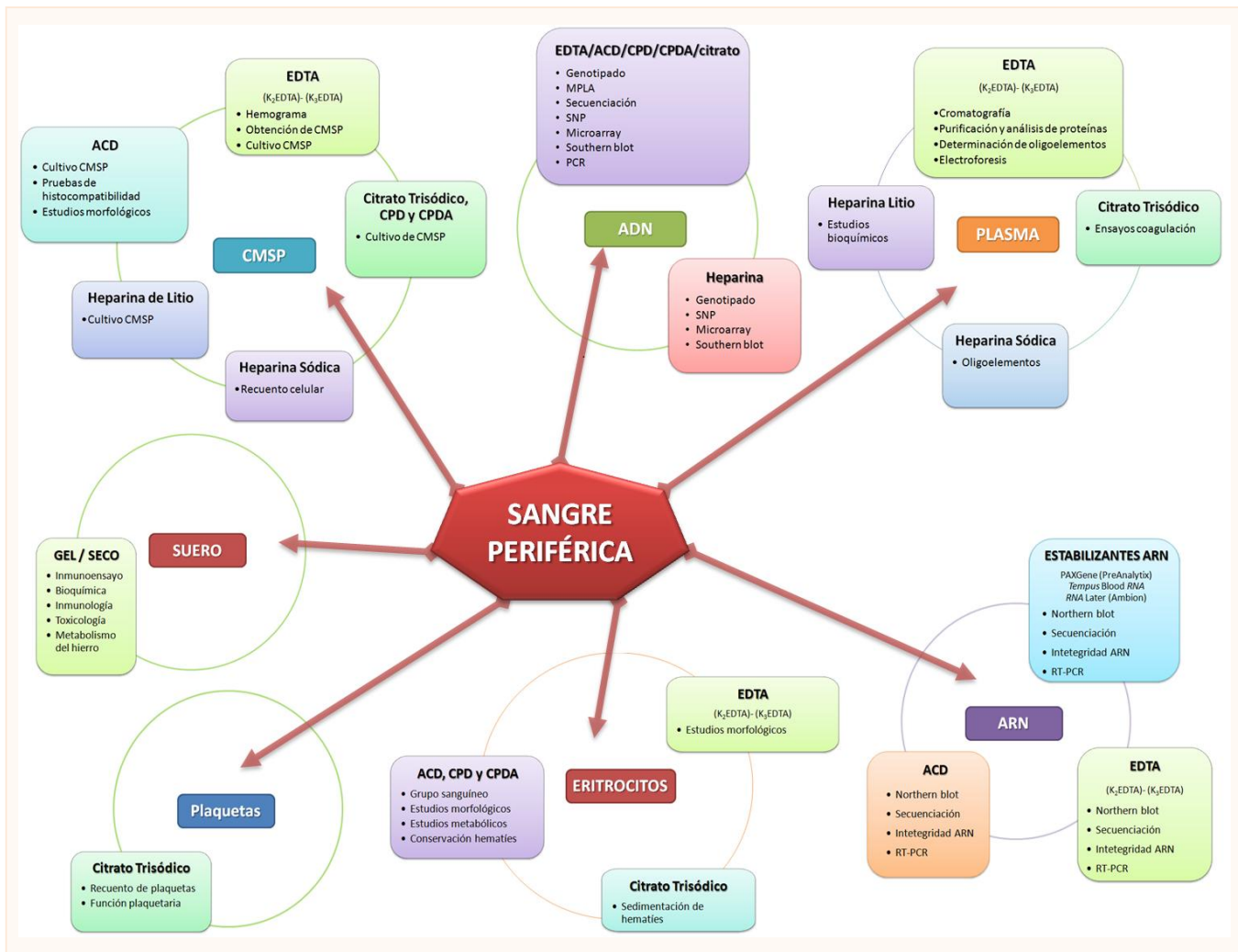
TA: Temperatura ambiente; NL: Nitrógeno líquido; min: minutos; h: horas; d: días; m: meses

TABLA 1. Condiciones de obtención y conservación de la muestra de acuerdo al tipo de estudio que se pretende realizar (continuación)

CAMPO DE APLICACIÓN	TÉCNICA	Aditivo Recomendado	Transporte y conservación de la sangre				TIPO DE MUESTRA OBTENIDA	Conservación de la muestra					Aditivo no recomendado
			TA	4°C	-20°C	-80°C		TA	4°C	-20°C	-80°C	NL	
ANÁLISIS DE PROTEÍNAS	ELECTROFORESIS	EDTA	3h	variable			PLASMA	3h	8 h	1 m	años		ACD/CPD/CPDA
	WERTERN BLOT	Gelsepardorsuero	2 h				SUERO	3 h	8 h	1 m	años		Anticoagulantes / Agentes estabilizantes
	PURIFICACIÓN Y ANÁLISIS	EDTA	3h	variable			PLASMA	3h	8 h	1 m	años		ACD/CPD/CPDA
		Gelsepardorsuero	2 h				SUERO	3h	8 h	1 m	años		Anticoagulantes / Agentes estabilizantes
	CUANTIFICACIÓN (Biuret, Bradford)	Gelsepardorsuero	2 h				SUERO	3h	8 h	1 m	años		Anticoagulantes / A estabilizantes
	SECUENCIACIÓN DE PROTEÍNAS	EDTA	3h	variable			PLASMA	3h	8 h	1 m	años		ACD/CPD/CPDA
		Gelsepardorsuero	2 h				SUERO	3h	8 h	1 m	años		Anticoagulantes / Agentes estabilizantes
	RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR	EDTA	3h	variable			PLASMA	3h	8 h	1 m	años		ACD/CPD/CPDA
		Gelsepardorsuero	2 h				SUERO	3h	8 h	1 m	años		Anticoagulantes / Agentes estabilizantes
	ESPECTROMETRÍA DE MASAS	EDTA	3h	variable			PLASMA	3h	8 h	1 m	años		HEPARINA/ ACD/CPD/CPDA
Gelsepardorsuero		2 h				SUERO	3h	8 h	1 m	años		Anticoagulantes / Agentes estabilizantes	
BIOQUÍMICA	DETERMINACIÓN DE OLIGOELEMENTOS	EDTA	12h	24 h			SANGRE / PLASMA	3h	8 h	1 m	años		ACD
INMUNOHEMATOLOGÍA	SERIE ROJA	EDTA	24h	10 d			ERITROCITOS		3 d		años	indefinido	
	SERIE BLANCA	EDTA	24h	10 d			LEUCOCITOS		3 d		1 año	indefinido	
	PLAQUETAS	EDTA	6 h				PLAQUETAS	3-5 d					
	ANTÍGENO HLA	ACD	48h	48 h			LEUCOCITOS		3 d		1 año	indefinido	
	ANTICUERPO HLA	EDTA	24h	10 d			PLASMA				años		

TA: Temperatura ambiente; NL: Nitrógeno líquido; min: minutos; h: horas; d: días; m: meses

Figura 2. Diagrama resumen del conjunto de derivados hemáticos con las posibles aplicaciones en función del contenedor primario de recogida de la sangre periférica



Bibliografía

1. BECTON, DICKINSON AND COMPANY: WWW.BD.COM
2. BIOLOGICAL SAMPLE COLLECTION AND PROCESSING FOR MOLECULAR EPIDEMIOLOGICAL STUDIES. NINA T. HOLLAND, MARTYN T. SMITH, BRENDA ESKENAZI, MARIA BASTAKI. MUTATION RESEARCH 2003: 543-217-234.
3. BLOOD COLLECTION, SHIPMENT, PROCESSING, AND STORAGE. JIMMIE B. VAUGHT. CANCER EPIDEMIOLOGICAL BIOMARKERS 2006:15(9) 1582-1584.
4. MANUAL DE OBTENCIÓN, TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS EN HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA. COORDINADOR JOSEP M^a JOU, SETH.
5. MOLECULAR MEDICINE IRELAND GUIDELINES FOR STANDARDIZED BIOBANKING. GUIERIN JS, MURRAY DW, McGRATH MM, YUILE MA, McPARTIN AND DORAN PP. BIOPRESERVATION & BIOBANKING, VOLUME 8 NUMBER 1, 2010.
6. NORMA ISO 6710.
7. SAMPLE HANDLING AND STORAGE SUBGROUP PROTOCOL AND RECOMMENDATIONS. VERSION 1.0, 7 JULY 2004. THE UK BIOBANK.
8. THE UK BIOBANK SAMPLE HANDLING AND STORAGE PROTOCOL FOR THE COLLECTION, PROCESSING AND ARCHIVING OF HUMAN BLOOD AND URINE. PAUL ELLIOTT AND TIM PEAKMAN. INTERNATIONAL JOURNAL OF EPIDEMIOLOGY 2008;37:234-244.
9. 2012 BEST PRACTICES FOR REPOSITORIES. COLLECTION, STORAGE, RETRIEVAL, AND DISTRIBUTION OF BIOLOGICAL MATERIALS FOR RESEARCH. INTERNATIONAL SOCIETY FOR BIOLOGICAL AND ENVIRONMENTAL REPOSITORIES (ISBER). THIRD EDITION. BIOPRESERVATION AND BIOBANKING. 2012, 10(2): 79-161.