

## Metodología

### 7. PROCEDIMIENTOS DE EXTRACCIÓN Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

	Muestreo	Análisis	Compuesto	Volumen necesario	Centro receptor
<b>12 semana</b>					
Sangre madre	100%	100%	Antioxidantes	3ml suero	Alicante¶¶
		Congelar †	Organoclorados	0.5 ml suero	CSIC
Orina	100%	Submuestra	Hidroxipireno	100ml	¿?
<b>32 semana</b>					
Sangre madre	100%	100%	Antioxidantes	3ml suero	Alicante¶¶
		Congelar †	Organoclorados	0.5 ml suero	CSIC
<b>Nacimiento</b>					
Placentas	Submuestra	Submuestra <sup>2</sup>	Disruptores hormonales	Toda la placenta	Granada¶¶
Sangre de cordón	100%	Submuestra <sup>5</sup>	OCs, polibromados	0.5ml suero	CSIC¶¶
		Submuestra	Ácidos grasos	0.5ml suero	Alicante
		Submuestra	Pb, Arsenico	1ml sangre total	CSIC
Meconio	Submuestra <sup>4</sup>	100%	OCs	Todo el meconio	CSIC
Calostro	100%	Congelar		10ml	
Pelo	100%	Submuestra <sup>4</sup>	Metil-Hg	100mg	CSIC¶¶
<b>4 año</b>					
Orina	†	Submuestra	Hidroxipireno	100ml	¿?
Pelo	100%	Submuestra <sup>3</sup>	Metil-Hg	100mg	CSIC¶¶
Sangre	100%	Submuestra <sup>5</sup>	OCs, polibromados	0.5 ml suero	CSIC¶¶
		Submuestra <sup>3</sup>	Hormonas tiroideas	0.5 ml suero	CSIC
		Submuestra <sup>3</sup>	Inmunoglobulinas	0.5 ml suero	¿?
		Submuestra	Pb, Arsenico	1ml sangre total	CSIC
		Submuestra	Ácidos grasos	0.5ml suero	Alicante
		Submuestra	Antioxidantes	3ml suero	Alicante¶¶
		100%	Fórmula	1ml sangre total	In situ

† Pendiente decidir

¶¶ Coste a cargo del centro receptor

<sup>1</sup> 100% en Valencia, <sup>2</sup> 100% en Granada, <sup>3</sup> 100% en Flix/Menorca, <sup>4</sup> En un principio sólo en Valencia (una submuestra) <sup>5</sup> 100% en oFlix/Menorca/Granada/Madrid

- **Protocolo para la recogida y conservación de muestras de orina**

**(12 semana de gestación)**

1. Se indicará a la embarazada que recoja 100ml de orina.
2. Proceda a la identificación del bote y etiquetado (OrM\_Centro\_Num historia y fecha)
3. Congele las muestras a  $-20^{\circ}\text{C}$  .
4. Protocolo de análisis

	<b>Muestreo</b>	<b>Análisis</b>	<b>Compuesto</b>	<b>Volumen necesario</b>	<b>Centro receptor</b>
12 semana					
Orina	100%	Submuestra	Hidroxi pireno	100ml	¿?

5. Envíe la muestra al centro receptor en nieve carbónica.

- **Protocolo para la recogida y conservación de muestras de sangre de la madre**

### **Extracción a la 12 y 32 semana de gestación**

(V1= 12 semana, V2= 32 semana)

1. Una vez seleccionado el punto de abordaje, proceda a una amplia limpieza de la zona de punción con un antiséptico tópico
2. Proceda a la canalización de la vena seleccionada y realice la extracción de 6 ml de sangre.
3. Realice hemostasia tras la finalización de la extracción.
4. Introduzca la sangre en un tubo vacutainer sin aditivos (1 tubo)
5. Proceda a la identificación de los tubos y etiquetado (S\_Centro\_Num historia y fecha\_V1&V2)
6. Envíe el tubo sin aditivos a centrifugar a 2500-3000 rpm durante unos 15 minutos al menos una hora después de realizada la extracción para permitir que se depositen las células. El centrifugado se realizará antes de las 4 horas de realizada la extracción.
7. Después de centrifugada la muestra extraiga 3ml de suero a un tubo sin aditivos (y 0.5 ml de suero en un tubo de vidrio €)
8. Proceda a la identificación del y etiquetado (S\_Centro\_Num historia y fecha\_V1&V2)
9. Congele las muestras a  $-20^{\circ}\text{C}$  o  $-80^{\circ}\text{C}$  en posición vertical y cuidando que el suero no toque el tapón de plástico hasta su traslado al lugar de análisis.
10. Protocolo de análisis

<b>Muestreo</b>	<b>Análisis</b>	<b>Compuesto</b>	<b>Volumen necesario</b>	<b>Centro receptor</b>
12 semana y 32 semana				

Sangre madre	100%	100%	Antioxidantes	3ml suero	Alicante†
		Congelar †	Organoclorados	0.5 ml suero	CSIC

† Pendiente decidir

11. Envíe la muestra al centro receptor en nieve carbónica.

- **Protocolo para la recogida y conservación de sangre de cordón**

1. Después del parto y antes de la expulsión de la placenta, se pinzará un extremo del cordón umbilical lo más cerca posible del ombligo del niño y otro extremo a unos 3-5 centímetros del primero.
2. Cortar la parte más distal del cordón entre el primer y segundo minuto después del parto.
3. Para el análisis de gases o si es necesaria una cantidad extra de sangre de cordón, se puede colocar otra pinza más allá de las dos pinzas previas.
4. Asegurarse que el extremo distal del cordón permanece pinzado para evitar pérdidas de sangre.
5. Insertar la aguja en la vena umbilical y aspirar 5 ml de sangre.
6. Recoger los 5 ml de sangre de cordón en un tubo Vacutainer sin ningún aditivo.
7. Centrifugar a 2500-3000 rpm durante unos 15 minutos en las primeras 72 horas.
8. Separar el suero en alícuotas (para el análisis de organoclorados utilizar tubos de vidrio de 2ml) debidamente etiquetadas (SCR\_Centro\_Num historia y fecha)
9. Congelar las muestras a  $-20^{\circ}\text{C}$  en posición vertical y cuidando que el suero no toque el tapón de plástico hasta su traslado al lugar de análisis.
10. Protocolo de análisis:

	<b>Muestreo</b>	<b>Análisis</b>	<b>Compuesto</b>	<b>Volumen necesario</b>	<b>Centro receptor</b>
<b>Nacimiento</b>					
Sangre de cordón	100%	Submuestra <sup>5</sup>	OCs, polibromados	0.5ml suero	CSIC†
		Submuestra	Ácidos grasos	0.5ml suero	Alicante
		Submuestra	Pb, Arsenico	1ml sangre total	CSIC

11. Envío en nieve carbónica al centro receptor

- **Protocolo para la recogida y conservación de meconio**

1. Se procederá a recoger todo el meconio en botes de vidrio muflados y tapón protegido con papel de aluminio. Asegúrese de que el tapón de aluminio recubre todo el bote y no hay contacto entre el tapón y la muestra.
2. Se recogerá con espátula metálica.
3. Proceda a la identificación de los tubos y etiquetado (MEC\_Centro\_Num historia y fecha)
4. Se enviará al laboratorio de forma inmediata y se someterá a 300° C para eliminar contaminantes.
5. Se almacenarán a -20°C
6. Protocolo de análisis:

	<b>Muestreo</b>	<b>Análisis</b>	<b>Compuesto</b>	<b>Volumen necesario</b>	<b>Centro receptor</b>
<b>Nacimiento</b>					
Meconio	Submuestra <sup>4</sup>	100%	OCs	Todo el meconio	CSIC

7. Se enviará en nieve carbónica al centro receptor.

- **Protocolo para la recogida y conservación de placenta**

1. Una vez expulsada la placenta se recogerá toda entera y se envuelve completa en papel de aluminio. Introdúzcala en una bolsa de plástico.
2. Proceda a la identificación de la bolsa y etiquetado (PLAC\_Centro\_Num historia y fecha)
3. Se envía al laboratorio y se congela a  $-20^{\circ}\text{C}$ , (siempre dentro de la media hora posterior al parto)
4. Tras la descongelación se homogeneiza la placenta completa con triturador mecánico en un vaso de acero inoxidable sobre una base de hielo.
5. Se toman cuatro alícuotas de unos 50 grms. cada una, en contenedores de plástico forrados con papel de aluminio.
6. Etiquete las alícuotas y congele a  $-20^{\circ}\text{C}$  o  $-80^{\circ}\text{C}$ .
7. Protocolo de análisis:

	<b>Muestreo</b>	<b>Análisis</b>	<b>Compuesto</b>	<b>Volumen necesario</b>	<b>Centro receptor</b>
Nacimiento					
Placentas	Submuestra	Submuestra <sup>2</sup>	Disruptores hormonales	Toda la placenta	Granada <sup>¶</sup>

8. Enviar en nieve carbónica dos alícuotas al centro receptor

- **Protocolo para la recogida y conservación de pelo**

1. Una vez que el niño ha sido bañado y con el pelo limpio se procederá a cortar o rasurar la máxima cantidad de pelo posible.
2. Si fuera posible se recogerán 150mgr. La cantidad mínima requerida es de 20mgr.
3. Se recogerá en bolsas de plástico cerradas con ranura impermeable (ZIP-LOCK).
4. Proceda a la identificación de la bolsa y etiquetado (CAB\_Centro\_Num historia y fecha)
5. Se guardarán a  $-20^{\circ}\text{C}$ .
6. Protocolo de análisis:

	<b>Muestreo</b>	<b>Análisis</b>	<b>Compuesto</b>	<b>Volumen necesario</b>	<b>Centro receptor</b>
Nacimiento					
Pelo	100%	Submuestra <sup>4</sup>	Metil-Hg	100mg	CSIC¶

7. Se enviará en sobre cerrado, a temperatura ambiente al centro receptor