

RECOGIDA DE PLACENTA EN EL PARTO. ESTUDIO INMA.

El estudio INMA lleva asociado la toma de una serie de muestras biológicas según el momento o fase del estudio. Coincidiendo con el parto se recoge una muestra de sangre de cordón umbilical y la placenta entera.

Recogida de la placenta:

Se recoge la placenta entera (no se elimina la parte de cordón umbilical que quede unida). Se envuelve la placenta en papel de aluminio de uso industrial y se introduce en una bolsa de plástico. Se coloca la etiqueta entre la bolsa de plástico y el envoltorio de aluminio. Finalmente se almacena a -20 °C, hasta su traslado al laboratorio. Solamente se recoge muestra de placenta en aquellas mujeres que están previamente identificadas. Del total de 600 mujeres (600 partos) participantes en el estudio se recogerán aproximadamente 220 placentas, algo más de un 25%.

Recogida de muestra de sangre de cordón umbilical.

Se recogerá muestra de sangre de cordón umbilical en todas las mujeres INMA; en las 600 mujeres participantes. El laboratorio del Hospital Zumarraga se encargará de la alicuotación de la muestra y de su posterior etiquetado y almacenamiento (-70°C).

En la sala de partos estará disponible un listado de las mujeres participantes en el estudio INMA. Además las mujeres INMA llevarán en su cartilla de embarazo una etiqueta acreditativa de su participación en el estudio.

Proctocolo de toma de muestra de sangre de cordón y placenta

i. Placenta:

Se recogerán en forma aleatoria una placenta de cada cuatro, correspondientes a los nacimientos de mujeres incluidas en el Estudio INMA que fueran sucediendo en forma consecutiva. Si la placenta de una gestante no pudiera ser recogida, se conservará la del próximo parto de la mujer INMA incluida.

La placenta se conservará íntegra a -20° . Será envuelta en papel de aluminio como muestra la figura 1. Luego se pegará la etiqueta con el mismo Idnum que la identifica (G_plac 0001) y se guardará todo dentro de una bolsa de polietileno. El centro receptor es el Hospital San Cecilio (Granada) y los envíos se harán periódicamente, según capacidad de almacenamiento de las muestras y disponibilidad de espacio de los congeladores.

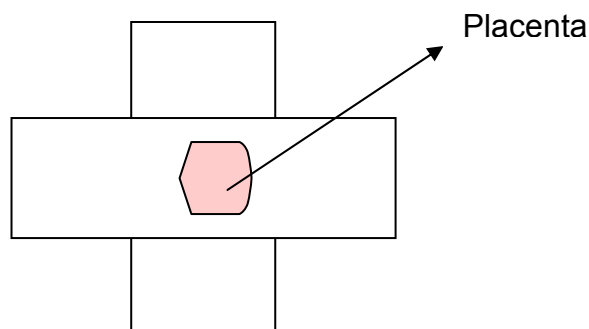


Figura 1.



Sab_ Plac 0001

A pink rounded hexagon shape, possibly representing a specific object or component.

ii. Cordón umbilical:

Una vez separado el cordón umbilical de la madre y el bebé, se procederá a recoger por punción, toda la sangre venosa posible en los contenedores que figuran a continuación, los cuales deberán estar previamente rotulados con un marcador permanente utilizando el Idnum que corresponda.

En relación con los **volúmenes** y el orden en el que han de recogerse, se distinguen:

- | | | |
|---|-------------------------|---|
| ▪ Tubo de suero (tapa marrón, N° 1): | recoger 3 ml | |
| ▪ Tubo con EDTA (tapa rosada, N° 2): | recoger 3 ml | } Son los tubos rosados de 4 ml de capacidad. |
| ▪ Tubo con EDTA (tapa rosada, N° 3): | recoger 2-3 ml | |
| ▪ Microtubo con EDTA (tapa roja, N° 4): | recoger 0,5-1 ml | } Son microtubos de 1,3 ml de capacidad, transparentes. |

Si una extracción fuera dificultosa, podrá prescindirse del tubo N° 3 y del tubo N°4 y solo llenar los dos restantes con los volúmenes mínimos de 2 ml cada uno. De este modo, sabiendo que el rendimiento es de aproximadamente del 30%, podrían obtenerse volúmenes de suero y de plasma de 0,6 ml cada uno, permitiendo estudiar solamente compuestos organoclorados y ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

A modo de resumen, según el circuito en sala partos del H. de Zumarraga el orden de tareas sería el siguiente:

1. Extracción de sangre de cordón en una jeringa de 10 ml de capacidad.

2. Tirar del émbolo de los tubos monovette (Sarstedt) hasta el final de su recorrido y luego quebrarlos con una maniobra suave pero firme. Luego abrir la tapa de cada uno y colocar el volumen de sangre correspondiente (ver esquema de arriba).
3. El tubo N°1 (tapa color marrón) no requiere mezcla por inversión. Los restantes, si.
4. Luego, dejar reposar todos los tubos entre 1-4 hs (ver luego condiciones).

Estas son las tareas responsabilidad del equipo de matronas del H. de Zumarraga. Las descritas de aquí en adelante, solamente se señalan a como información complementaria.

5. Centrifugar los tubos N°1 y N°2.
6. Almacenar a -20° los tubos N°3 y N°4 que no se centrifugaron.
7. Recoger el volumen completo de suero y plasma de los Tubos N°1 y N°2 con pipetas plásticas Pasteur, y colocarlos en los microtubos que correspondan (ver esquema "Tipo y volumen de alícuotas").
8. Almacenar a -20° los criotubos de vidrio, y trasladar cada 12 hs los microtubos identificados con color marrón del congelador de -20° de Sala de Partos al congelador de -80° C de la UDIAT.

En el siguiente esquema se repasa el material con el que se ha de procesar y/o almacenar las distintas muestras. Tener en cuenta que los tubos que contienen EDTA tienen una cantidad de anticoagulante relativa al volumen de sangre

para el que están diseñados. De este modo será muy importante respetar los volúmenes que se han de colocar en ellos.

Tubo 1 (9 ml)



Permite separar el suero de la sangre. No contiene por lo tanto ningún anticoagulante. De este suero que se obtiene se realizará la determinación de compuestos organoclorados (DDT, PCB's, hexaclorobenceno, etc.)

Tubo 2 (4 ml)



Permite separar el plasma de la sangre. Contiene EDTA como anticoagulante y por esto ha de mezclarse por inversión previo a colocar los tubos en las gradilla. En plasma se medirá el contenido de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

Tubo 3 (4 ml)



En este caso el contenido de EDTA no tiene el objetivo de separar plasma, ya que el tubo 3 no requiere centrifugación. En él se determinará DNA (ácido desoxirribonucleico).

Tubo 4 (1,3 ml)

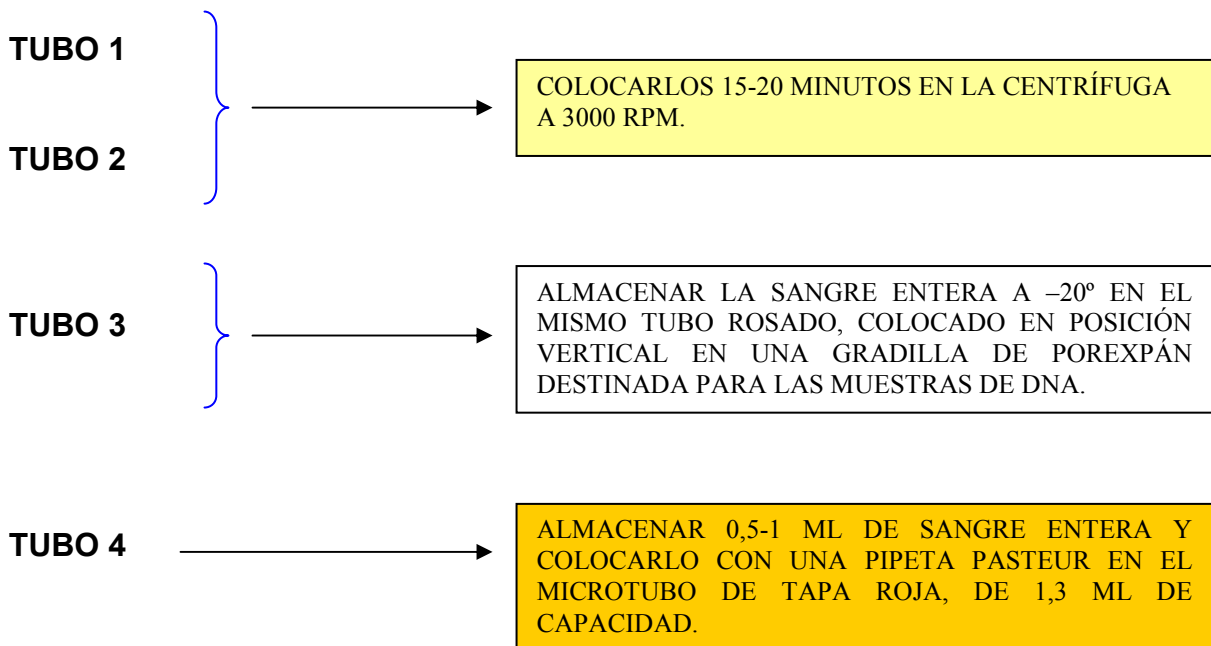


Al igual que el tubo N° 3, el contenido de EDTA es para evitar la formación de un coágulo, pero no requiere centrifugación. En él se determinará el contenido de plomo intraeritrocitario.

Una vez extraída la sangre, solamente para los tubos que contienen EDTA (los de tapón rosado y el microtubo de tapa roja de 1,3 ml) hay que mezclar por

inversión varias veces, para favorecer la mezcla del anticoagulante con la sangre.

Posteriormente, todos los tubos deben permanecer en posición vertical en la gradilla de porexpán. Para los tubos 1 y 2 (que requieren centrifuga), necesitan **como mínimo una hora en reposo previa centrifugación**, pudiendo demorarse incluso hasta cuatro horas siempre y cuando se sigan estas y otras recomendaciones: deben permanecer además protegidos de la luz, a una temperatura de 4° C, condiciones que pueden obtenerse colocando los tubos y la gradilla en una nevera (**no en el congelador de INMA**). Luego, se procederá de la siguiente manera según el tubo:



Para un adecuado funcionamiento de la centrifuga, los tubos 1 y 2 se colocarán dispuestos de modo que el peso en el interior del aparato esté equilibrado. Si los volúmenes de ambos fueran muy dispares, se introducirán tubos llenos con agua con iguales capacidades que los tubos madre para evitar un mal funcionamiento del equipo. Es importante aclarar que el aspecto del suero y el plasma en estado fresco, que ha sido correctamente separado, tiene que tener un color amarillo ámbar sin aspecto hemático. Este debe ser el estándar de control para saber que todo el proceso previo no ha tenido errores.

Una vez ya separadas las muestras, se procederá de la siguiente manera:

- a. Mantener siempre los tubos monovette posterior al centrifugado en posición vertical.
- b. Destapar el tubo que se ha de separar, introduciendo luego una pipeta plástica descartable, haciendo vacío antes de introducir la punta de modo de evitar la formación de burbujas en la columna de líquido.
- c. Es importante señalar que no debe volcarse suero o plasma desde la pipeta al tubo monovette del cual procede bajo ningún motivo, ya que esto puede generar una presión suficiente sobre el líquido contenido en el tubo, empeorando la calidad de la muestra que se pretendió separar.
- d. El suero (Tubo 1) se colocará completamente en el tubo de vidrio de tapa blanca, y se pondrá entre ella y el tubo un trozo de papel aluminio para que la muestra no esté en contacto con material plástico durante su conservación a -20° .
- e. El plasma (Tubo 2) se colocará completamente en el criotubo de tapa marrón. No será necesario el uso de aluminio entre la tapa a rosca y el tubo. La determinación de ácidos grasos de cadena larga poliinsaturados (L-Pufa's) requiere que esta muestra de plasma se conserve en ultracongelación (-80°) de modo que para facilitar la logística en cada hospital, **los criotubos de color marrón podrían permanecer a -20° solo durante 12 hs hasta que puedan ser luego trasladados al congelador adecuado.** Mas allá de este tiempo, la oxidación de las cadenas de ácidos grasos puede perjudicar su determinación, reduciendo artificialmente su nivel en plasma.

Tal como ya se dijo, los tubos 3 y 4 no se centrifugan. Ambos se conservan a -20° , el de DNA en su tubo monovette original, y la muestra de sangre total (0,5 – 1 ml) para plomo en un criotubo transparente de 1,3 ml de capacidad.