

7. PROCEDIMIENTOS DE EXTRACCIÓN Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

	Muestreo	Análisis	Compuesto	Volumen necesario	Centro receptor
12 semana					
Sangre madre	100%	Submuestra ¹	Antioxidantes	0.1 ml plasma	Alicante
		Submuestra ¹	Ácidos grasos y vitaminas	2ml suero y 2 ml de plasma	Belfast
Orina	100%	Submuestra	Hidroxi pireno	100ml	CSIC
Uña	100%	Submuestra	Arsénico, Zinc	Trozo uña	CSIC
32 semana					
Orina	100%	Submuestra ¹	F2 isoprostanos	100 ml	Belfast
Nacimiento					
Sangre de cordón	100%	Submuestra ⁵	OCs, polibromados	0.5ml suero	CSIC
		Submuestra	Ácidos grasos	0.5ml suero	Alicante
		Submuestra	Plomo	1ml sangre total	CSIC
Placentas	Submuestra	Submuestra ²	Disruptores hormonales	Toda la placenta	Granada
Meconio	Submuestra ⁴	100%	OCs	Todo el meconio	CSIC
Pelo	100%	Submuestra	Metil-Hg	100mg	CSIC
Calostro	100%	Congelar		10ml	
4 año					
Sangre	100%	Submuestra ⁵	OCs, polibromados	0.5 ml suero	CSIC
		Submuestra ³	Hormonas tiroideas	0.5 ml suero	CSIC
		Submuestra ³	Inmunoglobulinas	0.5 ml suero	LRC
		Submuestra	Plomo	1ml sangre total	CSIC
		Submuestra	Antioxidantes	0.1 ml plasma	Alicante
		Submuestra	Ácidos grasos y vitaminas	2ml suero y 2 ml de plasma	Belfast
	100%	Fórmula		1ml sangre total	In situ
Orina	100%	Submuestra ¹	F2 isoprostanos	100ml	Belfast
		Submuestra	Hidroxi pireno	100ml	CSIC
Pelo	100%	Submuestra ³	Metil-Hg	100mg	CSIC
Uña	100%	Submuestra	Arsénico, Zinc	Trozo uña	CSIC

¹ 100% en Valencia, ² 100% en Granada, ³ 100% en Flix/Menorca, ⁴ En un principio sólo en Valencia

⁵ 100% en Flix/Menorca/Granada/Madrid

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

Extracción a la 12 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)
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)
9. Congele las muestras a -20°C o -80°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:

	Muestreo	Análisis	Compuesto	Volumen necesario	Centro receptor
12 semana					
Sangre madre	100%	Submuestra ¹	Antioxidantes	0.1 ml plasma	Alicante
		Submuestra ¹	Ácidos grasos y vitaminas	2ml suero y 2 ml de plasma	Belfast

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

- **Protocolo para la recogida y conservación de muestras de orina**
Extracción a la 12 semana

1. Se indicará a la embarazada que recoja 100ml de orina.
2. Proceda a la identificación del bote y etiquetado (H_Centro_Num historia y fecha)
3. Congele las muestras a -20°C .
4. Protocolo de análisis:

	Muestreo	Análisis	Compuesto	Volumen necesario	Centro receptor
12 semana					
Orina	100%	Submuestra	Hidroxipireno	100 ml	CSIC

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

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

Extracción a la 12 semana

1. Proceda a cortar un trozo de uña de cada uno de los dedos gordos del pie
2. Coloque las dos uñas dentro de un sobre correctamente identificado (U_Centro_Num historia y fecha)
3. Si por alguna razón las uñas de los dedos gordos no pueden ser cortadas, pero hay uñas disponibles en otros dedos, proceda a cortar un trocito de cualquier otra uña de los dedos y colóquela/s en el sobre.
4. Limpiar con alcohol el cortauñas después de cada uso para evitar cualquier tipo de infección micótica o bacteriana.
5. Guarde las muestras a temperatura ambiente
6. Protocolo de análisis:

	Muestreo	Análisis	Compuesto	Volumen necesario	Centro receptor
12 semana					
Uña	100%	Submuestra	Arsénico, Zinc	Trozo uña	CSIC

7. Envíe la muestra al centro receptor (no hace falta nieve carbónica).

Nota importante:

Si el sujeto tiene problemas en los pies como resultado de una diabetes o de cualquier otra patología, no colecte la muestra de uñas y anótelos en la hoja de seguimiento.

- **Protocolo para la recogida y conservación de muestras de orina**
Extracción a la 32 semana

1. Se indicará a la embarazada que recoja 100ml de orina.
2. Proceda a la identificación del bote y etiquetado (F2_Centro_Num historia y fecha)
3. Congele las muestras a -20°C .
4. Protocolo de análisis:

	Muestreo	Análisis	Compuesto	Volumen necesario	Centro receptor
32 semana					
Orina	100%	Submuestra ¹	F2 isoprostanos	100 ml	Belfast

5. 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°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:

	Muestreo	Análisis	Compuesto	Volumen necesario	Centro receptor
Nacimiento					
Sangre de cordón	100%	Submuestra ⁵	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 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°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°C o -80°C .
7. Protocolo de análisis:

	Muestreo	Análisis	Compuesto	Volumen necesario	Centro receptor
Nacimiento					
Placentas	Submuestra	Submuestra ²	Disruptores hormonales	Toda la placenta	Granada¶¶

8. Enviar en nieve carbónica dos alícuotas al centro receptor

- **Protocolo para la recogida y conservación de meconio (sólo en Valencia)**

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:

	Muestreo	Análisis	Compuesto	Volumen necesario	Centro receptor
Nacimiento					
Meconio	Submuestra ⁴	100%	OCs	Todo el meconio	CSIC

7. Se enviará en nieve carbónica al centro receptor.

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

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°C .
6. Protocolo de análisis:

	Muestreo	Análisis	Compuesto	Volumen necesario	Centro receptor
Nacimiento					
Pelo	100%	Submuestra ⁴	Metil-Hg	100mg	CSIC††

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

• **Protocolo para la recogida y conservación de calostro**

1. La recogida del calostro se realizará durante la estancia en el hospital antes del alta del parto.
2. Se debe limpiar la zona del pezón con un algodón mojado con agua para evitar la contaminación de la leche por cremas y otras sustancias. Secar muy bien la zona con una gasa seca.
3. Para extraer el calostro es mejor que lo haga la misma mujer mediante una manipulación manual. Si no se consigue de esta manera se puede utilizar un chupador.
4. Se recolectarán 50 mL de calostro en tubos de vidrio de cuello ancho sin añadir ningún aditivo.
5. Etiquetar los tubos (CAL_Centro_Num historia y fecha)
6. Congelar las muestras a -20°C en posición vertical y cuidando que el calostro no toque el tapón de plástico hasta su traslado al lugar de análisis.

	Muestreo	Análisis	Compuesto	Volumen necesario	Centro receptor
Nacimiento					
Calostro	100%	Congelar		10ml	

• **Protocolo para la recogida y conservación de muestras de sangre**
Extracción a los 4 años

1. Prepare al niño para obtener su colaboración.
2. Aplique anestesia local en la zona seleccionada para la punción.
3. Una vez seleccionado el punto de abordaje, proceda a una amplia limpieza de la zona de punción con un antiséptico tópico
4. Proceda a la canalización de la vena seleccionada y realice la extracción de 12 ml de sangre. Realice hemostasia tras la finalización de la extracción.
5. Introduzca la sangre en los receptáculos adecuados al tipo de determinación.
6. Introduzca 1 ml en un tubo vacutainer con heparina. Prepare 2 tubos
10 ml en un tubo vacutainer sin aditivos (1 tubos)
7. Envíe el tubo sin aditivos a centrifugar a 2500-3000 rpm durante unos 15 minutos en las primeras 72 horas y uno de los tubos con heparina para realizar la fórmula leucocitaria.
8. Separe el suero en 4 alícuotas de 0.5ml y 1 alícuota de 3ml.
9. Proceda a la identificación de los tubos y etiquetado (SCR_Centro_Num historia y fecha)
10. Congele las muestras a -20°C o -80°C en posición vertical y cuidando que el suero no toque el tapón de plástico hasta su traslado al lugar de análisis.
11. Protocolo de análisis:

4 año					
Sangre	100%	Submuestra ⁵	OCs, polibromados	0.5 ml suero	CSIC
		Submuestra ³	Hormonas tiroideas	0.5 ml suero	CSIC
		Submuestra ³	Inmunoglobulinas	0.5 ml suero	LRC
		Submuestra	Plomo	1ml sangre total	CSIC
		Submuestra	Antioxidantes	0.1 ml plasma	Alicante
		Submuestra	Ácidos grasos y vitaminas	2ml suero y 2 ml de plasma	Belfast
		100%	Fórmula	1ml sangre total	In situ

12. Envíe las muestras (a excepción del tubo extraído para la fórmula) al centro receptor en nieve carbónica.

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

Extracción a los 4 años

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. En los niños de cuatro años se cortará un mechón de cabello.
2. Si fuera posible se recogerán 150mgr. La cantidad mínima requerida en 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°C .
6. Protocolo de análisis:

4 año					
Pelo	100%	Submuestra ³	Metil-Hg	100mg	CSIC↑

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

- Protocolo para la recogida y conservación de muestras de orina**
Extracción a los 4 años

- 1) Se recogerán 200ml de orina del niño.
- 2) Proceda a la identificación del bote y etiquetado (OrN_Centro_Num historia y fecha)
- 3) Congele las muestras a -20°C .
- 4) Protocolo de análisis

4 año					
	Muestreo	Análisis	Compuesto	Volumen necesario	Centro receptor
Orina	100%	Submuestra ¹	F2 isoprostanos	100ml	Belfast
		Submuestra	Hidroxipireno	100ml	CSIC

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

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

Extracción a los 4 años

1. Proceda a cortar un trozo de uña de cada uno de los dedos gordos del pie
2. Coloque las dos uñas dentro de un sobre correctamente identificado (UN_Centro_Num historia y fecha)
3. Si por alguna razón las uñas de los dedos gordos no pueden ser cortadas, pero hay uñas disponibles en otros dedos, proceda a cortar un trocito de cualquier otra uña de los dedos y colóquela/s en el sobre.
4. Limpiar con alcohol el cortauñas después de cada uso para evitar cualquier tipo de infección micótica o bacteriana.
5. Guarde las muestras a temperatura ambiente
6. Protocolo de análisis:

	Muestreo	Análisis	Compuesto	Volumen necesario	Centro receptor
12 semana					
Uña	100%	Submuestra	Arsénico, Zinc	Trozo uña	CSIC

7. Envíe la muestra al centro receptor (no hace falta nieve carbónica).

Nota importante:

Si el sujeto tiene problemas en los pies como resultado de una diabetes o de cualquier otra patología, no colecte la muestra de uñas y anótelos en la hoja de seguimiento.