



GUÍA PRÁCTICA

**para la
utilización
de muestras
biológicas en
Investigación
Biomédica**



I. PANORAMA GENERAL

- 1. Estado de la cuestión sobre investigación biomédica con muestras biológicas**
- 2. Marco ético y jurídico general**

I. Panorama general

1. ESTADO DE LA CUESTIÓN SOBRE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA CON MUESTRAS BIOLÓGICAS

Cada vez más, y en especial a partir de los enormes avances de la Genómica, Proteómica y Transcriptómica, disponer de muestras humanas debidamente registradas y almacenadas se ha convertido en una imperiosa necesidad para la investigación biomédica.

¿Cuál es la situación real con la que nos enfrentamos en España actualmente con respecto a la obtención, el almacenamiento y la cesión de muestras para estudios biomédicos? El Instituto Roche realizó una encuesta como trabajo previo al desarrollo de esta guía para detectar cuál era la práctica habitual en los diferentes centros españoles. De esta encuesta, a pesar de lo reducido del muestreo, se pueden obtener algunas conclusiones bastante fiables. Sobre esta base se repasarán las condiciones de los biobancos en España.

A saber, más del 80% de los biobancos de muestras humanas existentes se ubican en hospitales y, dentro de ellos, un 40% aproximadamente corresponden a colecciones de Anatomía Patológica, el otro 40% al almacenaje de muestras para estudios genéticos, y el 20% restante son colecciones vinculadas a departamentos de investigación.

Naturalmente, las colecciones vinculadas a Anatomía Patológica almacenan tejidos y, en menor medida, ADN/ARN, mientras que en los biobancos la proporción se invierte. Curiosamente, en pocos casos se almacenan células, incluidos los precursores hematopoyéticos, algo que seguramente variará rápidamente en los próximos años gracias al interés creciente por la terapia celular y la Medicina Regenerativa.

Un punto relevante es que los biobancos almacenan muchas más muestras de las que sirven, lo que indica que en gran medida una de las principales tareas de un biobanco y que marca su nivel de excelencia, consistente en el intercambio de sus muestras para la investigación, no se está cumpliendo.

Es importante detenerse en este aspecto porque lo que diferencia a un biobanco de una colección “inerte” es que el primero intercambia con otras instituciones científicas

el material que posee, que debe aumentar y mejorar constantemente, y el segundo se limita a ser un reservorio de muestras.

Con referencia a la recepción/cesión de muestras, se debe señalar también que todavía un porcentaje importante de usuarios utiliza sus propios medios para el transporte de las mismas, algo que demuestra la falta de controles y de rigor en el traslado. En este mismo sentido, pero aún más grave, se encuentra el hecho de que alrededor del 60% de las instituciones no requiere ningún certificado de transporte para mandar o recibir muestras, aspecto clave para su correcta preservación y que está ampliamente legislado en otros países.

Cuatro elementos que “informan” sobre las condiciones de un biobanco son la estandarización de los protocolos que utiliza, la forma en la que codifica e identifica las muestras, el rigor con el que utiliza los consentimientos informados y la cualificación de su personal. Se revisará a continuación qué aporta la encuesta sobre estos aspectos.

En general, los distintos biobancos analizados poseen una variedad importante tanto de métodos de congelación como de recipientes para su realización, incluso un porcentaje importante utiliza sistemas de congelación programables. Lo mismo puede decirse de la disponibilidad de arcones y contenedores para el mantenimiento de las muestras. La variedad es mayor respecto de la forma de almacenar las muestras, la disponibilidad de contenedores para el traslado o las medidas de seguridad de los arcones (por ejemplo, no todos disponen de alarma de aporte de CO₂ y pocos utilizan alarmas remotas por cable o telefónicas, red SAI, o bien vigilantes de seguridad).

Aunque un porcentaje alto de los biobancos y colecciones tiene programas de control de calidad, más de un tercio de los centros de investigación carece de ellos y sólo alrededor del 60% de los distintos tipos de establecimientos que almacenan muestras humanas tienen intención de obtener una certificación de calidad.

En este mismo sentido, un porcentaje notable de colecciones posean métodos de identificación manual y no todos los establecimientos disponen de aplicación informática para el control de los datos, ni de la función de adjudicación del lugar de la muestra en el arcón o de comunicación con otros bancos, ni de conexión a programas de gestión clínica.

Es preocupante que aproximadamente un tercio de los bancos no posean consentimientos informados que autoricen la obtención y el almacenamiento de las muestras. Sólo en los bancos vinculados a pruebas genéticas este porcentaje disminuye considerablemente. Aún peor es que, incluso existiendo tales consentimientos informados, no siempre –ni mucho menos– se utilizan. Por el contrario, es tranquilizador que las muestras almacenadas en los centros de investigación son en un 100% anonimizadas.

También inquieta la escasa dedicación prestada por los responsables de los bancos a los mismos. El director o el jefe técnico no dedican en exclusividad más del 10-20% de su tiempo a las tareas vinculadas al banco. Este hecho refleja el escaso interés que

muestran los centros/hospitales por estos establecimientos a los que vinculan básicamente con la investigación y, por ello, en los centros de investigación la dedicación se duplica. Por otra parte, parece importante la necesidad de aumentar la formación del personal que trabaja en el banco, salvo en el caso –nuevamente– de los centros de investigación.

Se cierra este repaso comentando otros dos aspectos acerca de la realidad de los biobancos en España. Incluso en los centros de investigación, la actividad vinculada con los bancos medida en forma de publicaciones o patentes no es muy alta. Tampoco parecen estar muchos bancos particularmente interesados en fomentar la donación de muestras o en la obtención de otras nuevas, aspecto clave para el buen funcionamiento del banco como antes se mencionaba.

Es evidente que, aunque los biobancos son elementos cuya importancia para la investigación biomédica se reconoce cada día más, necesitan todavía un impulso aún mayor. Es fundamental modernizar sus instalaciones, especialmente sus sistemas de alarma y de control, mejorando los controles de calidad y la preparación de sus técnicos, además de aumentar el tiempo de dedicación que prestan estos últimos a los bancos. Su colaboración con otros biobancos o su funcionamiento en red es capital para la expansión de estos establecimientos. Y todo ello requiere un sistema de acreditación que defina qué es y qué no es un biobanco, y que señale las competencias de aquellos que realmente lo sean frente a otros que no constituyan más que meras colecciones.

No es fácil definir un biobanco. Se puede aventurar una definición que, al menos, encierre muchos de los elementos esenciales que aquí se han señalado. Se podría definir un biobanco como un establecimiento público o privado, sin ánimo de lucro, que acoge una colección de muestras biológicas organizada como una unidad técnica con criterios de calidad, orden y destino con fines diagnósticos o de investigación biomédica. En esta definición se enfatizan tres aspectos que han de presidir la “vida del biobanco”: gratuidad, ordenación científica de las muestras y un procedimiento técnico de calidad que asegure la idoneidad de la obtención y del mantenimiento de las mismas.

2. MARCO ÉTICO Y JURÍDICO GENERAL

Una muestra biológica humana es una parte del cuerpo humano separada del mismo que alberga ácidos nucleicos y que contiene la dotación genética característica de una persona. Sus características son: 1) es una parte del cuerpo; 2) está separada del mismo; 3) alberga la dotación genética característica de una persona. La muestra biológica es, pues, un soporte de datos y una parte del cuerpo.

Los datos que potencialmente se pueden obtener de las muestras presentan unas características específicas que los hacen diferentes de los datos de salud en general. Así pues, pueden ofrecer información sobre predisposiciones a enfermedades incluso en personas asintomáticas e incidir sobre las personas asintomáticas, a veces, inesperadamente; son constantes a lo largo de toda la vida e incluso se pueden ob-

tener tras el fallecimiento. Por otra parte, se heredan, lo cual significa que se comparten –al menos potencialmente– con la familia biológica y se pueden transmitir a la descendencia. Tanto la familia biológica como la pareja con la que se piensa tener descendencia pueden mostrar interés en conocer esta información, lo que podría implicar un conflicto de intereses o condicionar las decisiones del sujeto del que se obtienen.

Lo cierto es que este material es una herramienta fundamental en la investigación biomédica que se puede obtener con una extracción (bien con una primera finalidad clínica, bien con una finalidad exclusiva de donación para la investigación) o recurriendo a muestras históricas, es decir, a las que ya están almacenadas.

En efecto, este material se viene recogiendo y almacenando en los laboratorios y hospitales con fines de donación, terapia, diagnóstico e investigación. Algunas de estas colecciones han sido objeto de regulación jurídica con el objetivo fundamental de garantizar la protección de la salud humana.

Todo el proceso de utilización de estas muestras, su obtención, conservación y cesión, tiene implicaciones para los derechos de los sujetos y plantea cuestiones a las que el ordenamiento jurídico debe dar respuesta.

No existe, por el momento, en el ordenamiento jurídico español ninguna legislación específica que regule la utilización de muestras humanas con fines de investigación biomédica. No obstante, sí se ha regulado la utilización de partes del cuerpo separadas del mismo con finalidades terapéuticas, reproductivas y de trasplante. Esta normativa está experimentando un proceso de actualización a partir de la adecuación a las recientes directivas europeas.

Valgan como ejemplos:

- El Real Decreto 411/1996, de 1 de marzo, por el que se regulan las actividades relativas a la utilización de tejidos humanos.
- El Real Decreto 413/1996, de 1 de marzo, por el que se establecen los requisitos técnicos y funcionales precisos para la autorización y la homologación de los centros y servicios sanitarios relacionados con las técnicas de reproducción humana asistida.
- El Real Decreto 2070/1999, de 30 de diciembre, que regula la obtención y la utilización clínica de órganos humanos para la donación y el trasplante.
- El Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre, por el que se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión.
- El Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos.
- El Real Decreto 65/2006, de 30 de enero, por el que se establecen requisitos para la importación y exportación de muestras biológicas.
- La Orden SCO/393/2006, de 8 de febrero, por la que se establece la organización y funcionamiento del Banco Nacional de Líneas Celulares.

- La Directiva 2004/23/CE, de 31 de marzo de 2004, relativa al establecimiento de normas de calidad y de seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos, cuya transposición representará la modificación de algunas de las normas anteriores y la introducción de otras nuevas.

No obstante, el Gobierno de la Nación ha anunciado la próxima remisión a las Cortes Generales del Proyecto de Ley de Investigación Biomédica, donde entre otras materias se abordará de forma específica el régimen de los análisis genéticos, las muestras biológicas y los biobancos.

En todas estas normas se exige el respeto a los derechos de los sujetos y, en concreto, a su integridad física y a la protección de sus datos de carácter personal.

A partir de esta situación, la identificación de las prescripciones jurídicas que deben guiar a los investigadores que utilicen en sus investigaciones muestras biológicas exige un doble ejercicio: por una parte, la aplicación por analogía en determinados aspectos de las normas específicas citadas sobre la utilización de partes del cuerpo con otras finalidades; y por otra parte, la proyección de normas más generales hacia esta materia concreta.

Estas normas generales son las que se refieren al marco de los derechos de los pacientes y usuarios del sistema de salud: la Ley 14/1986, de 25 de abril, General de Sanidad, el Convenio de Derechos Humanos y Biomedicina del Consejo de Europa (que entró en vigor en España el 1 de enero del año 2000); y la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de los derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica (así como las normativas autonómicas correspondientes). A éstas se ha de unir la legislación sobre protección de datos que contempla un régimen específico para el tratamiento de los datos de salud (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos, de Carácter Personal y Normativa de Desarrollo).

Además, desde los organismos internacionales se viene trabajando en los últimos años en la redacción de documentos de distinta naturaleza sobre esta cuestión, que son una guía muy valiosa para la interpretación del marco normativo existente. Cabe destacar la Declaración Universal sobre los Datos Genéticos Humanos de la UNESCO, de 16 de octubre de 2003, y la Recomendación (2006) 4 del Consejo de Europa, sobre investigación con material biológico de origen humano, de 15 de marzo de 2006, que será la base para un futuro protocolo al Convenio de Derechos Humanos y Biomedicina.

Por lo que se refiere a la regulación en otros países, son pocos los europeos con una normativa específica sobre la utilización de muestras biológicas y biobancos para la investigación científica (Islandia, Noruega y Dinamarca cuentan con leyes de 2002, 2003 y 2004, respectivamente; en Francia se tratan algunas cuestiones en la ley de 2004 relativa a la Bioética). Previsiblemente, esta tendencia hacia la regulación se consolidará a la vista del interés por este asunto, que se plasma en que algunos comités naciona-

les de ética lo han tratado en extensos informes: Reino Unido (*Human tissue and biological samples for use in research*, 2001), Alemania (*Biobanken*, 2004), Francia (*Problèmes éthiques posés par les collections de matériel biologique et les données d'information associées: biobanques, biothèques*), e Irlanda (*Human Biological Material. Recommendations for collection, use and storage in research*, 2005).



GUÍA PRÁCTICA

**para la
utilización
de muestras
biológicas en
Investigación
Biomédica**



II. EL PROCESO DE UTILIZACIÓN DE LA MUESTRA

1. Origen

2. Obtención

- 2.1. Procedimientos técnicos para la obtención de las muestras biológicas de origen humano
 - 2.1.A. Tumores y tejidos sanos
 - 2.1.B. Células
 - 2.1.C. Fluidos
- 2.2. El respeto de los derechos de los pacientes en la obtención de las muestras
- 2.3. La gratuidad de la donación

3. Preparación de las muestras

- 3.1. Procedimientos técnicos para la preparación de las muestras
 - 3.1.A. Tejidos y tumores
 - 3.1.B. ADN y ARN
 - 3.1.C. Células
 - 3.1.D. Fluidos
- 3.2. El respeto de los derechos del paciente relativos al uso de las muestras

4. Conservación

- 4.1. Procedimientos técnicos para la conservación de las muestras
 - 4.1.A. Tejidos y órganos
 - 4.1.B. ADN y ARN
 - 4.1.C. Células
 - 4.1.D. Fluidos
- 4.2. El respeto de los derechos de los pacientes durante la conservación de las muestras
 - 4.2.A. Diferenciación entre muestras según su relación con un sujeto identificado o identificable
 - 4.2.B. Confidencialidad
 - 4.2.C. Derecho a no saber
 - 4.2.D. Derechos de acceso y rectificación
 - 4.2.E. Periodo de conservación

5. Circulación

- 5.1. Aspectos técnicos del transporte de muestras biológicas
 - 5.1.A. Legislación aplicable
 - 5.1.B. Envío de muestras
 - 5.1.C. Identificación
 - 5.1.D. Clasificación de las muestras para el envío
 - 5.1.E. Empaquetado
 - 5.1.F. Etiquetado
 - 5.1.G. Documentación para el envío de mercancías peligrosas
 - 5.1.H. Aspectos particulares para cada tipo de muestra
- 5.2. La regulación jurídica de la importación y la exportación de muestras
 - 5.2.A. Entrada
 - 5.2.B. Salida
- 5.3. Cautelas sobre el tratamiento de datos de carácter personal en la transferencia internacional de muestras biológicas identificadas o identificables

6. Cesión de muestras para otros investigadores

- 6.1. Usos de las muestras para investigación
- 6.2. Gestión de las peticiones de material
- 6.3. Aplicación de los principios de protección de datos de carácter personal en la cesión de las muestras

7. Procesamiento. Implicaciones jurídicas del uso de la muestra

8. Prácticas de seguridad

- 8.1. Condiciones de trabajo
- 8.2. Protección de las muestras
- 8.3. Tratamiento de residuos
 - 8.3.A. Según el tipo de residuo
- 8.4. Listado de medidas preventivas

9. Explotación de los resultados de la investigación

- 9.1. La relación con el paciente
- 9.2. El marco jurídico aplicable
- 9.3. ¿Se puede patentar un producto derivado de una muestra biológica?
- 9.4. La cuestión del consentimiento como posible requisito de patentabilidad
- 9.5. La propiedad de la patente del producto derivado de la muestra:
la distribución de beneficios económicos
- 9.6. La comercialización de las muestras

10. Recomendaciones para la estructuración y funcionamiento de un biobanco

II. El proceso de utilización de la muestra

1. ORIGEN

La determinación del tipo de muestras que se precisan en la investigación es un primer paso fundamental para que el proceso de utilización posterior sea ágil y racional.

Si se considera que los biobancos deberían ser, de forma ideal, los establecimientos más idóneos para almacenar y distribuir las muestras biológicas obtenidas con fines de investigación, sus características técnicas más idóneas serían las siguientes:

1) En primer lugar, conviene definir el tipo de banco que puede ser independiente o estar asociado con otros bancos; en el segundo caso, cada banco está asociado a una red, con lo que sus procedimientos estarán regulados por los procedimientos consensuados por la red.

2) En segundo lugar, conviene fijar los criterios de selección de las muestras: es recomendable que cada banco establezca, con antelación y basándose en sus objetivos, los criterios de selección de las muestras que tengan interés para su archivo entre aquellas en las que:

- Exista material sobrante de estudios diagnósticos.
- Se cuente con consentimiento informado expreso del paciente.
- El tiempo transcurrido entre la extracción y la conservación se ajuste a los estándares de calidad de cada tipo de muestra.

Estos criterios típicamente se relacionan con el interés y la finalidad del banco o de los grupos que utilizan o que se prevé que utilizarán las muestras almacenadas. Aunque el criterio empleado puede ser en principio almacenar todas las muestras que, cumpliendo los criterios anteriores, lleguen al banco, hay que considerar que el mantenimiento de un archivo con escasa utilización supone un coste variable que, dependiendo de los formatos en los que se archiven las muestras, puede suponer una sobrecarga económica importante para la institución.

En el caso de decidir almacenar indiscriminadamente todas las muestras, habrá ciertamente que contar con una gran capacidad de almacenamiento. Por otro lado, los criterios empleados para que una muestra sea seleccionada para su archivo en el banco

deben ser difundidos de forma clara a todos los que participan en su procesamiento desde la obtención de la muestra hasta el final del procedimiento. Conviene reseñar la conveniencia, siempre que sea posible, de archivar muestras patológicas (por ejemplo, tejido tumoral) y su contrapartida normal, imprescindible para muchos estudios. Cuando esto último no sea posible, puede plantearse la toma de muestras de células de la mucosa bucal del paciente con una torunda y que se laven en un medio adecuado para su posterior almacenamiento.

En resumen, conviene decidir cuanto antes cuál será el objetivo de cada banco y esto determinará el criterio de selección de material:

- Colección indiscriminada de muestras.
- Colección restringida a ciertos tipos de muestras.
- Colección de series limitadas de casos (ensayos clínicos).
- Colección de patologías concretas: cardiovasculares, neurodegenerativas, cáncer, etc.

Cuando se pretenda un almacenamiento restringido de determinadas patologías para investigación, sería recomendable considerar entre ellas aquellos tipos por los que exista un conocido interés en la institución.

2. OBTENCIÓN

A continuación se estudian, en primer lugar, los procedimientos técnicos para la obtención de muestras en función de que se trate de tejidos, células o fluidos; en segundo lugar, se describen los criterios que se deben respetar en relación con los derechos de los sujetos fuente en esta fase.

2.1. Procedimientos técnicos para la obtención de las muestras biológicas de origen humano

2.1.A. Tumores y tejidos sanos

A.1. Rapidez y forma de obtención

La calidad de las muestras depende en gran medida de la rapidez y de la forma de obtención, así como del procesamiento y del tipo de transporte hasta llegar al banco de tejidos. Además, debido a la enorme variabilidad biológica, algunos tipos de tejidos y de tumores pueden necesitar un tratamiento individualizado. Estas variables son especialmente importantes cuando se pretende la extracción y el posterior uso del ARN. Por ello, es recomendable un inmediato traslado de las muestras, en especial las obtenidas por procedimientos quirúrgicos, punciones y biopsias, desde el lugar de obtención hasta el servicio en el que se van a realizar los estudios diagnósticos (por ejemplo, Anatomía Patológica o Hematología) donde se efectuará la toma de la parte de la muestra excedente del diagnóstico para su archivo en el banco de tejidos. Esto requiere la coordinación con el personal que realizará el traslado de las muestras. El envío de las mismas, una vez obtenidas, se debe hacer preferentemente en condiciones de esterilidad y en fresco.

A.2. Tiempos desde la extracción a la conservación

Se debe establecer un máximo de tiempo desde la extracción quirúrgica hasta la congelación a partir del cual el material se rechazará. Este tiempo puede variar con el tipo de tejido y el objetivo para el cual se ha obtenido (extracción de ARN, ADN, proteínas, histología, etc.). Como regla general, toda muestra que haya tardado más de dos horas en este proceso y que haya estado a temperatura ambiente debe ser descartada. En el caso de extraer ARN, el estándar de calidad se sitúa en un tiempo menor de 30 minutos. Estos tiempos varían con el tipo y el tamaño del tejido. La entrada de la muestra en la base de datos debería recoger el tiempo transcurrido desde su extracción hasta su congelación.

A.3. Requisitos de la toma de muestras

La toma de muestras para el archivo en el banco de tejidos debe cumplir los siguientes requisitos:

- 1) No puede interferir ni con el diagnóstico histopatológico, citomorfológico, fenotípico o molecular del caso, ni con el uso para otro tipo de fines primordiales para el paciente, como la evaluación de los parámetros pronósticos; en otras palabras, sólo se podrá utilizar para el archivo el material excedente del utilizado para los fines anteriormente citados.
- 2) Con el objetivo de asegurar lo recogido en el punto anterior, la toma de la muestra para el banco de tejidos la realizará una persona cuya capacitación lo garantice.
- 3) La toma se realizará garantizando la calidad del procedimiento para asegurar su utilidad futura.

En principio, y con el objetivo de que las muestras almacenadas puedan ser estudiadas mediante todos los métodos diagnósticos y de investigación que estén disponibles o que se pudieran aplicar previsiblemente, éstas se deberían recoger y manipular en condiciones de esterilidad y, aunque esto sea deseable, con frecuencia no se puede garantizar, lo que no debe impedir que se tomen las mayores precauciones para evitar la contaminación del tejido de interés. En este apartado se hará referencia específica a las recomendaciones para los diferentes tipos de muestras, según su procedencia, siempre y cuando existan aspectos especiales que se deban resolver.

2.1.B. Células

Si se trata de células, se pueden diferenciar dos tipos de muestras según su origen: células *ex vivo* y líneas celulares derivadas de ellas.

Aunque las células *ex vivo* son, generalmente, más difíciles de obtener que las líneas celulares, en muchos casos son la única opción, por ejemplo, cuando no se dispone de una línea establecida que mimetice las condiciones celulares del organismo o su estado fisiológico, o siempre que se pretenda su utilización con fines diagnósticos.

También, en el caso de estudios sobre patologías, la fuente de la muestra es generalmente *ex vivo*, si bien de muchos tipos celulares, principalmente tumores, de donde se pueden derivar líneas celulares.

En cualquier caso, cuando sea posible y el tipo de ensayo lo permita, la facilidad de manejo y la reproductividad de los resultados aconsejan el empleo de líneas celulares, aunque siempre será una situación no exactamente igual a la condición *ex vivo*.

De hecho, se han realizado importantes avances en la generación de líneas celulares para investigación y, actualmente, es un reto su utilización con fines terapéuticos o regenerativos. De esta forma, se han obtenido líneas tumorales o procedentes de distintas patologías, líneas de células y tejidos sanos y, más recientemente, líneas derivadas de células troncales embrionarias y adultas.

B.1. Aislamiento de células *ex vivo*

Un primer paso para la obtención de células *ex vivo* consiste en obtener una suspensión de células individualizadas. En los casos en los que la muestra proceda de fluidos corporales (sangre, orina, líquido peritoneal, etc.), las células se encuentran ya en suspensión y no es necesaria su preparación.

B.1.1. Preparación de suspensiones de tejidos sólidos

1) Métodos físicos: determinados tipos celulares se encuentran débilmente unidos al resto de las células presentes en los órganos, por ejemplo, las células linfoides. En estos casos, es posible su liberación y la recuperación mediante la simple disgregación mecánica del órgano en un medio o tampón adecuado, por ejemplo el medio de cultivo RPMI 1640 + 5% de FCS. La disgregación mecánica se puede realizar mediante la fragmentación del tejido con pinzas o tijeras, y pasando los fragmentos repetidamente por una pipeta o aguja, o bien mediante el empleo de un homogeneizador.

2) Métodos enzimáticos: en muchos casos, la presencia en el tejido de uniones celulares (tejidos epiteliales) o de una matriz extracelular (tejidos conectivos) hace necesaria una digestión enzimática para liberar las células. Las enzimas utilizadas son: colagenasa, tripsina, elastasa, hialuronidasa, papaína, ADNasa. En líneas generales, el procedimiento a seguir consiste en:

- Fragmentación del tejido en piezas pequeñas.
- Lavado de los fragmentos en el tampón o un medio adecuado.
- Digestión con la mezcla de enzimas elegida en el medio adecuado.
- Disgregación del tejido mediante pipeteo o pasándolo a través de una jeringa.
- Filtrado de la suspensión.
- Lavado de las células.
- Recuento y estimación de la viabilidad celular.

En este tipo de procedimientos, es necesario optimizar las concentraciones de enzimas y el tiempo de digestión, teniendo en cuenta que muchos preparados comerciales varían de lote a lote. La elección de la mezcla de enzimas adecuada depende del

tipo de muestra y, para cada muestra en concreto, es importante remitirse como referencia a métodos previamente utilizados y que aseguran, por lo tanto, cierta reproducibilidad.

Por su parte, la elección del tampón o del medio de digestión debe ser compatible con las diferentes actividades de la mezcla enzimática.

Como consideración general, es primordial tener en cuenta que los preparados enzimáticos comerciales presentan diferentes actividades y grados de toxicidad. Es importante, por consiguiente, evaluar el rendimiento y la viabilidad de las células obtenidas, por ejemplo, mediante la tinción con azul tripán y el recuento en un hemocitómetro.

La suspensión resultante debe quedar lo más libre posible de células muertas, restos celulares y restos de tejido sin digerir. Es una buena medida la incorporación de la ADNasa en la digestión, ya que el ADN liberado densifica el medio, entorpeciendo el procesamiento y disminuyendo su rendimiento. No deben omitirse, por consiguiente, los pasos de filtrado y lavado de la suspensión celular obtenida.

La suspensión resultante debe mantenerse en frío y procesarse para lo que sea menester (análisis, almacenamiento, fijación o aislamiento celular) lo más rápidamente posible.

B.1.2. Aislamiento de tipos celulares

Una vez obtenida la suspensión celular del tejido, existen diferentes aproximaciones para aislar o enriquecer las células de interés.

En primer lugar, se debe decidir la pureza del tipo celular concreto que se necesita para la finalidad perseguida. Es necesario, igualmente, evaluar la relevancia en la muestra final de otros tipos celulares no deseados y presentes en el tejido inicial, que pueden quedar como “contaminantes” y alterar o entorpecer los objetivos. Por ejemplo, para un determinado estudio que parte de una suspensión que contiene células de tipo A, B y C, podría ser importante que la suspensión final contuviera células A pero nunca B, aunque la presencia de células C sea indiferente.

En función de las necesidades concretas se debe decidir, por consiguiente, qué método proporciona un mayor rendimiento con respecto a las células de interés y a la pureza requerida, resultando discriminatorio para las células no deseadas. En este sentido, es importante realizar estudios previos (análisis histológico, citometría de flujo, etc.) que orienten sobre la frecuencia en la muestra de las células de interés frente a las células no deseadas, lo que permitiría una mejor relación pureza-rendimiento.

En función de estos criterios, se puede optar por diferentes técnicas que emplean como parámetro diferencial distintas propiedades de las células objeto del aislamiento:

1) Métodos físicos (centrifugaciones): cuando las diferentes células de la muestra tienen claras diferencias de densidad, la centrifugación en gradiente de densidad es muy útil para su aislamiento. No obstante, es difícil pensar que se pueda obtener una población celular pura por esta técnica, pero puede resultar muy útil para eliminar de la muestra algunas células no deseadas (como los eritrocitos en las muestras de sangre) o para enriquecer la suspensión en las células de interés, por ejemplo, como ocurre en el enriquecimiento en células dendríticas a partir del bazo.

2) Parámetros fisiológicos: en muchas ocasiones, es posible discriminar diferentes tipos de células en función de sus propiedades fisiológicas, como son la adhesión al sustrato o las condiciones de crecimiento en el cultivo. Mediante la incubación de la suspensión celular en plástico u otras superficies, se pueden separar las células adherentes de las no adherentes o las células con distinto grado de adhesión. Existen numerosos ejemplos de esta aplicación, entre ellos:

- La separación de células T de los ganglios linfáticos en la columna de nailon.
- La separación de macrófagos y de células dendríticas de los órganos linfoides.

También es factible separar las células epiteliales de los fibroblastos, en un cultivo primario, mediante la digestión suave con proteasas (por ejemplo, tripsina). Por otra parte, en numerosas ocasiones se puede enriquecer una muestra en un tipo celular concreto mediante el cultivo primario en condiciones que favorezcan su crecimiento o supervivencia frente al resto. Por ejemplo, para cultivos de células tumorales o troncales un procedimiento habitual consiste en cultivar un explante o una suspensión celular total bajo determinadas condiciones en las que las células tumorales o las troncales acaban siendo seleccionadas en el cultivo gracias a su mayor capacidad de supervivencia y proliferación.

3) Utilización de la expresión diferencial de moléculas superficiales (técnicas de inmunomarcaje): actualmente, estas técnicas suelen ofrecer el mayor grado de pureza de la muestra y permiten la exclusión de tipos celulares muy concretos. Implican la discriminación de las células en función de la expresión diferencial de las moléculas superficiales, principalmente las proteínas de membrana, que se pueden detectar con ayuda de un reactivo específico –normalmente un anticuerpo–, y también las lectinas y otras moléculas. Los dos procedimientos principales son:

- El empleo de anticuerpos o reactivos conjugados con sustancias fluorescentes que son analizadas en un citómetro separador que permite la separación de las células en función de este análisis.
- El empleo de anticuerpos unidos a partículas magnéticas que son retenidas en un campo magnético.

Si bien las dos aproximaciones son similares, existen diferencias entre ambas que conviene remarcar. Por su naturaleza, el citómetro separador permite un análisis multiparamétrico al poder analizar diferentes fluorescencias y, por lo tanto, confiere la posibilidad de combinar diferentes marcadores y definir la población deseada con una gran especificidad, mientras que con un procedimiento de retención en el campo magnético solamente se puede distinguir marcado frente a no marcado y, por consiguiente,

te, las posibilidades de definir la población deseada son más restringidas. En general, las células sufren más en el citómetro separador y, en consecuencia, pueden resultar más dañadas o alteradas para posteriores análisis.

En ambos casos, es importante asegurarse de que la expresión de los marcadores utilizados sea verdaderamente diferencial entre las células deseadas y las no deseadas. A este respecto, hay que testar la especificidad y eficacia de los anticuerpos sobre células frescas, evaluándose previamente la muestra y el marcaje por citometría de flujo para determinar tanto la calidad del marcaje como lo discriminatorio que resulta y la frecuencia de células deseadas existente en la muestra.

Se debe tener en cuenta que las células obtenidas tienen unidos el anticuerpo o anticuerpos con los que se han marcado, por lo que siempre que sea posible es preferible utilizar una selección negativa, es decir, marcar las poblaciones no deseadas y dejar libre la fracción no marcada. Esto, sin embargo, no es posible en muchas ocasiones, por lo que se debe considerar cuál será el efecto de la presencia del anticuerpo utilizado en la muestra final. Por ejemplo, muchos anticuerpos activarán en la célula las moléculas a las que se han unido, lo que puede interferir en ensayos funcionales, etc. Existe también la posibilidad de liberar el anticuerpo unido, pero los métodos necesarios para ello implican una mayor manipulación y, por lo tanto, un mayor riesgo de estropear la muestra.

Independientemente del método utilizado, una vez recuperadas las células, se ha de evaluar el rendimiento y la pureza obtenidos en el aislamiento.

4) Aislamiento de células observadas al microscopio (microdissección por láser): determinados estudios de Genómica o Proteómica se pueden llevar a cabo en la actualidad con mínimas cantidades de material. Con respecto a las muestras estudiadas por microscopía, la microdissección mediante láser permite señalar la célula o células de interés directamente en la sección observada y “recortarla/s” con ayuda de un láser, así como extraerla/s de la muestra para su análisis posterior.

B.2. Líneas celulares

Como ya se ha indicado, la obtención de líneas celulares de distinto origen constituye una fuente importante de células con fines de investigación. Aparte de su directa generación, las líneas celulares se pueden obtener de colecciones; entre las más completas se encuentran: *American Type Culture Collection (ATCC)*, *National Cell Culture Center* del NIH o *European Collection of Cell Cultures (ECACC)*. También se pueden obtener mediante la cesión de otro laboratorio, siendo ésta una práctica habitual entre investigadores.

2.1.C. Fluidos

Los procesos que se realizan en los laboratorios deben garantizar la calidad de los resultados. Se sabe que las fases en las que se divide todo proceso analítico son tres: la preanalítica (hasta que la muestra llega a los analizadores o lugares de trabajo), la

analítica (proceso de realización de la determinación) y la postanalítica (desde el momento en el que se tiene el resultado hasta que llega al médico).

En estudios realizados por diversos autores sobre los errores en los resultados de los laboratorios, que se sitúan en un 0,81% de las determinaciones, se ha constatado que proceden en un 70-80% de la fase preanalítica, en un 6-13% de la fase analítica y en un 12-18% de la fase postanalítica. Al analizar las causas más frecuentes de los errores de la fase preanalítica se ha observado que dos de las pruebas que presentan un porcentaje más alto de problemas son los estudios de coagulación y la velocidad de sedimentación globular (VSG).

Es necesario garantizar una adecuada calidad de la fase preanalítica, que va desde la solicitud del análisis hasta la recepción en el laboratorio. Las demás fases carecerán de sentido si no se hace correctamente la primera. En ella intervienen muchos mecanismos, organizaciones y personas que hacen difícil el control total de esta fase.

Los laboratorios clínicos utilizan sistemas de transporte de muestras dado que tienen centros de extracción periféricos o dado que envían algunas determinaciones a otros laboratorios. Dicho transporte debe regirse por una normativa técnica muy bien establecida con el fin de garantizar la estabilidad de las propiedades biológicas de las muestras. Todas las organizaciones y personas que intervengan en el transporte de muestras biológicas deben estar formadas y autorizadas según el material que deban transportar.

Los fluidos o líquidos orgánicos más habituales que se estudian en los laboratorios son:

- Sangre total: plasma y suero.
- Líquido pleural.
- Líquido pericárdico.
- Líquido ascítico.
- Líquido cefalorraquídeo.
- Líquido sinovial.

Cada uno de estos líquidos posee un sistema peculiar de obtención que requiere habilidad y que debe ser realizado por médicos entrenados para ello, pues su incorrecta realización puede poner en peligro la vida de los pacientes.

Respecto de las muestras de sangre periférica (SP) y aspirados de médula ósea (MO):

- Las muestras de SP y/o aspirados de MO se deben recoger en tubos estériles que contengan el anticoagulante suficiente y adecuado para permitir la posterior realización de los estudios de investigación necesarios.
- Es de interés para muchos tipos de investigación biomédica que el biobanco recoja, además del tejido específico patológico de un paciente, plasma y células sanguíneas del mismo.

Puede interesar la recogida de muestras de diferentes líquidos, incluidos orina, líquido cefalorraquídeo (LCR), líquido pleural, peritoneal o sinovial, e incluso de lavados broncoalveolares.

C.1. Rapidez y forma de obtención

Conviene tener en cuenta, en el caso del estudio de parámetros bioquímicos de muestras sanguíneas, que la extracción del espécimen se debe realizar preferiblemente tras un periodo de al menos ocho horas de ayuno, en reposo y, como mínimo, una hora después del ejercicio físico. Las muestras lipémicas, que acontecen tras la ingesta, pueden alterar diversas magnitudes. El estrés, el ejercicio y el tabaco influyen en numerosas magnitudes de la hemostasia. Por este motivo, se debe procurar que la obtención de muestras en las que se vayan a medir las magnitudes de la hemostasia se efectúe en condiciones basales.

Es indispensable, asimismo, evitar las malas extracciones, para lo que se harán siempre a partir de una punción limpia. La extracción se puede efectuar mediante un tubo de vacío, o bien mediante una jeringa con o sin “palomilla”. Es admisible una breve compresión con torniquete. Tiempos de constricción de un minuto seguidos de liberación del torniquete no tienen consecuencias sobre las concentraciones de los componentes del suero y los factores de coagulación del plasma. Cuando se usan múltiples tubos de recolección para obtener las muestras de sangre venosa, el tubo destinado a los exámenes de la coagulación debería ser el segundo o preferiblemente el tercer tubo, a fin de minimizar la contaminación con tromboplastina tisular liberada a raíz de la punción venosa. Cuando se obtiene una muestra de sangre, es imperativo poner atención en asegurar la mezcla completa de la sangre con el anticoagulante; se inclinará suavemente el tubo varias veces y se evitará así la formación de espuma. No deben transcurrir más de dos minutos entre el comienzo de la estasis venosa y la mezcla de la sangre con el anticoagulante.

No se realizarán extracciones a través de vías heparinizadas o catéteres. Si no hubiera más remedio que utilizarlas, la cánula debe enjuagarse con una solución salina isotónica en una cantidad proporcional al volumen del catéter. Se recomienda desechar una cantidad de sangre equivalente a dos veces el volumen del catéter. Habitualmente, los 5-10 mL primeros de sangre se deberán desechar antes de la recolección del espécimen de sangre. La contaminación de la muestra con heparina es uno de los artefactos frecuentemente acontecidos en la práctica diaria.

La contaminación de las muestras de laboratorio por soluciones de infusión intravenosa es la forma de interferencia preanalítica más común y frecuentemente más relevante en los pacientes ingresados.

El tubo que ha de utilizarse para obtener plasma es el de citrato trisódico (0,105 mol/L) (3,2%). Se trata del anticoagulante estándar para la recolección de las muestras destinadas a la realización de exámenes globales de coagulación. Existen tubos con distintas concentraciones de este anticoagulante que conducen a resultados diferentes. Se recomienda el uso de la concentración al 3,2% de 0,105 mol/L. Se prefiere citrato

tamponado a un pH de 5,5, ya que el pH de la mezcla (plasma y citrato) se aproxima más al fisiológico que el del no tamponado.

En los exámenes de coagulación, tales como el tiempo de protrombina (TP) y el tiempo de tromboplastina parcial (TTPA), el pH de la mezcla de reacción se debería mantener preferentemente dentro de un intervalo de pH entre 7,10 y 7,35. La relación nominal de volumen de citrato y sangre es de 1:9. Si esta relación se incrementa, es decir, si se recolecta menos sangre, la concentración efectiva de anticoagulante aumenta. Esto se traduce en un aumento del valor del TTPA, especialmente si la relación baja de 1:7. Por el contrario, se precisa una corrección de la relación anticoagulante/sangre en los casos de poliglobulia cuando el hematocrito del paciente excede del 55%. En estos casos, los valores del TP y del TTPA se ven afectados debido a una reducción del compartimiento plasmático por un aumento en el volumen de los eritrocitos, lo que conduce a un exceso de citrato en el plasma. Este exceso de citrato prolonga el proceso de coagulación por insuficiencia de calcio. Una relación de 1:10 puede ser la adecuada en los casos de poliglobulia.

En la práctica diaria esta corrección de la proporción citrato/sangre no suele ser muy operativa, y, de no hacerse, en el informe analítico se hará constar la posible interferencia de resultados en relación con la poliglobulia.

Para la obtención de los líquidos biológicos se deben efectuar las siguientes punciones:

- **Líquido pleural:** punción pleural.
- **Líquido pericárdico:** punción cardíaca.
- **Líquido ascítico:** punción peritoneal.
- **Líquido cefalorraquídeo:** punción lumbar.
- **Líquido sinovial:** punción articular.

Todas las punciones serán realizadas por personas entrenadas y en las máximas condiciones de asepsia posibles.

C.2. Tratamientos individualizados

La sangre destinada a medir la concentración de productos de degradación de la fibrina (PDF) en el plasma se debería recolectar en una mezcla que contuviese 10 U de trombina y 1.835 U de inhibidor tripsina de soja por mililitro de sangre. La trombina convierte el fibrinógeno residual en fibrina, ya que de otra manera se obtendría una concentración de productos de degradación de la fibrina falsamente elevada. La generación de PDF *in vitro*, después de la recolección de sangre, se impide, bien por el inhibidor tripsina de soja, bien por la aprotinina, que también inhibe la enzima plasmina generadora de productos de degradación de la fibrina. Por el contrario, la medición de la concentración del dímero D, que refleja la acción de la fibrinólisis, se puede realizar utilizando plasma citratado.

Se ha apreciado que, con fines de monitorizar el tratamiento con heparina no fraccionada, el mejor anticoagulante es el citrato asociado a teofilina, adenosina, dipirida-

mol (mezcla CTAD), puesto que previene la pérdida de la heparina contenida en la muestra clínica, merced a una mayor estabilización plaquetaria, limitando la liberación del factor 4 plaquetario, que se observa cuando sólo se utiliza el citrato. No obstante, la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH) no recomienda por el momento la implantación generalizada de esta nueva mezcla en el laboratorio de coagulación, por sus efectos sobre la razón normalizada internacional (INR), utilizada en la monitorización del tratamiento anticoagulante oral.

C.3. Tiempos desde la extracción a la conservación

La conservación de los especímenes en el tubo primario puede ser a temperatura ambiente (20-25 °C) y en condiciones de refrigeración (4-6 °C). En la Tabla I se señalan las temperaturas aconsejables para cada magnitud. Las condiciones de estabilidad de algunas magnitudes biológicas en espécimen y muestra han sido sorprendentes, muestran una aparente mayor estabilidad de la que se les venía adscribiendo. En la Tabla II se especifican los datos de estas magnitudes. Parece claro que estos estudios en muchos casos son de valor limitado, bien sea por el número de muestras incluidas, bien sea por su limitación a un tipo concreto de instrumentos. Por otro lado, se conoce cómo la estabilidad de una determinada magnitud no es igual en una muestra normal que en una patológica.

Finalmente, no hay que olvidar que un mismo espécimen y muestra se pueden utilizar para realizar determinaciones de magnitudes diferentes. Por esta razón, habrá que asumir la menor estabilidad de las magnitudes que se vayan a analizar. Por todo ello, parece recomendable asumir las especificaciones señaladas en la Tabla I.

2.2. El respeto de los derechos de los pacientes en la obtención de las muestras

La utilización de material biológico humano está condicionada por las técnicas necesarias para obtenerlo y por la voluntad del sujeto para acceder a su utilización científica. Las técnicas para la obtención de material biológico pueden ser muy banales (recogida de pelo, exudado, descamación mucosa, o incluso muestras de sangre periférica), o bien suponer un riesgo –a veces elevado– para el paciente, como en el caso de biopsias o muestras intraoperatorias.

Cuando los procedimientos que se utilizan para obtener las muestras son los mismos que se llevan a cabo por razones diagnósticas o terapéuticas, la información sobre riesgos y el consentimiento para esos procedimientos son los mismos que deben atenderse en el caso de la intervención diagnóstica o terapéutica. En estos casos, sólo sería necesario un consentimiento específico en relación con el destino posterior de las muestras.

Cuando el único objetivo de estos procedimientos es la obtención de muestras para la investigación, entonces, además del consentimiento para la extracción y la utilización de las muestras, es imprescindible la información detallada y el conocimiento de las molestias y riesgos asociados a estas prácticas.

TABLA I. Condiciones preanalíticas óptimas para magnitudes hemostáticas

I. HEMOSTASIA PRIMARIA						
Magnitud	Preparación del paciente	Tubo primario	Transporte y conservación del espécimen	Muestra	Método de obtención de la muestra	Conservación de la muestra
1. Recuento plaquetario y frotis	Rep.	EDTA (a)	20-25 °C (<6 h); 2-8 °C (<12 h)	Espécimen	Agitac.	Id. espécimen
2. Agregación plaquetaria	Rep./Ayun.	Cit. Na o ACD	20-25 °C (2-4 h)	PRP	Cent. (20 °C)	20-25 °C (<4 h)
3. Tiempo de hemorragia (tiempo de sangría, TH)	Rep.	No				
4. Función plaquetaria, sangre total (PFA 100 Col/ADP y Col/EPI)	Rep.	Cit. Na	20-25 °C (<4 h)	Sangre Cit.	Agitac.	Id. espécimen
5. Factor von Willebrand	Rep./Ayun.	Cit. Na	2-8 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	2-8 °C (4 h); -20 °C (1 m); -80 °C (>3 m, <1 a)
6. Glicoproteínas de membrana plaquetaria (citometría de flujo)	Ayun.	Cit. Na o EDTA	20-25 °C (<4 h)	Conc. Pt.	Cent. o gel filtr.	20-25 °C (<4 h)
7. Glicoproteínas de membrana plaquetaria (electroforesis)	Ayun.	Cit. Na o EDTA	20-25 °C (<4 h)	Pt. L.	Cent. o gel filtr.	2-8 °C (4 h); -70 °C (>3 m, <1 a)
8. Anticuerpos antiplaquetarios		EDTA	20-25 °C (<4 h)	Conc. Pt.	Cent.	20-25 °C (4 h)
9. Cuantificación de gránulos densos plaquetarios		Cit. Na o ACD	20-25 °C (<2 h)	Pt. L./ Conc. Pt.	Cent. o gel filtr.	20-25 °C (4 h)
10. Beta-2-tromboglobulina		Cit. Na + inh. Pt.	2-8 °C (4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min)	2-8 °C (4 h); -70 °C (>3 m, <1 a)
11. Factor 4 plaquetario		Cit. Na + inh. Pt.	2-8 °C (4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min)	2-8 °C (4 h); -70 °C (>3 m, <1 a)
II. COAGULACIÓN						
1. Tiempo de protrombina (TP); INR tubo	Rep./Ayun.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (24 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m) (b)
2. INR, sangre capilar	Rep./Ayun		Uso inmediato	Sangre SA	Uso inmediato	
3. Tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA, tiempo de cefalina)	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	2-8 °C (4 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
4. Tiempo de trombina (TT)	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (2-4 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)

TABLA I. Condiciones preanalíticas óptimas para magnitudes hemostáticas (continuación)

Magnitud	Preparación del paciente	Tubo primario	Transporte y conservación del espécimen	Muestra	Método de obtención de la muestra	Conservación de la muestra
5. Tiempo de reptilase	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (2-4 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
6. Consumo de protrombina	Rep.	Sin antic.	20-25 °C	Suero	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (2-4 h); -70 °C (>3 m)
7. Fibrinógeno	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (2-4 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
8. Factor II	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
9. Factor V	Rep.	Cit. Na	2-8 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	2-8 °C (2-4 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
10. Factor VII	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	20-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
11. Factor VII activado (VII:a)	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (2-4 h); -20 °C (1 md); -70 °C (>3 m, <1 a)
12. Factor VIII	Rep.	Cit. Na	2-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	2-8 °C (2-4 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
13. Factor IX	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
14. Factor X	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
15. Factor XI	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
16. Factor XII	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)

TABLA I. Condiciones preanalíticas óptimas para magnitudes hemostáticas (*continuación*)

Magnitud	Preparación del paciente	Tubo primario	Transporte y conservación del espécimen	Muestra	Método de obtención de la muestra	Conservación de la muestra
17. Factor XIII	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
18. Factor Fletcher (prekalicreína)	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
19. Factor Fitzgerald (factor Flujeauc, Williams, cininógeno alto peso molecular)	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
20. Inhibidores adquiridos (factores de la coagulación)	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
21. Titulación Bethesda anticuerpos FVIII y FIX	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
22. Titulación anti-FVIII porcino	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
23. Titulación anti-FXa (heparinemia)	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
24. Productos de degradación del fibrinógeno/fibrina (PDF)	Rep.	Tromb. + EACA	8-25 °C (<4 h)	Suero	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
25. Dímero D (D-D)	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
26. Monómeros de fibrina soluble		Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	20-25 °C (2 h); 2-8 °C (4 h)
27. Fibrinopéptido A		Cit. Na + AP	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
28. Complejos trombina-antitrombina (TAT)	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (6 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)

TABLA I. Condiciones preanalíticas óptimas para magnitudes hemostáticas (continuación)

Magnitud	Preparación del paciente	Tubo primario	Transporte y conservación del espécimen	Muestra	Método de obtención de la muestra	Conservación de la muestra
29. Fragmento 1+2 de la protrombina	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (2-4 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
III. FIBRINOLISIS						
1. Lisis de euglobulinas (test de von Kaulla)	Rep.	Cit. Na	2-8 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	2-8 °C (<4 h)
2. Plasminógeno	Rep.	Cit. Na	2-8 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	2-8 °C (<4 h); -20 °C (7 d); -70 °C (>3 m, <1 a)
3. Activador tisular plasminógeno (t-PA)	Rep.	Cit. Na acidific.	<8 °C (<2 h) Baño de agua helada	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	2-8 °C (<2 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
4. Activador plasminógeno tipo urocinasa (u-PA)	Rep.	Cit. Na acidific.	<8 °C (<2 h) Baño de agua helada	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	2-8 °C (<2 h); -20 °C (1 m); -70 °C (3-6 m)
5. Complejos plasmina-antiplasmina (complejos PAP)	Rep.	Cit. Na	<8 °C (<2 h) Baño de agua helada	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	2-8 °C (<2 h); -20 °C (1 m); -70 °C (3-6 m)
IV. INHIBIDORES DE LA COAGULACIÓN Y FIBRINOLISIS						
1. Antitrombina (AT)	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	20-25 °C (7 d); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
2. Proteína C (PC)	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (2-4 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
3. Proteína S (PS)	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (2-4 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
4. Proteína S (PS: Ag, total y libre)	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (2-4 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)

TABLA I. Condiciones preanalíticas óptimas para magnitudes hemostáticas (continuación)

Magnitud	Preparación del paciente	Tubo primario	Transporte y conservación del espécimen	Muestra	Método de obtención de la muestra	Conservación de la muestra
5. Alfa-2-antiplasmina	Rep.	Cit. Na	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (2-4 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
6. Inhibidor del activador tisular del plasminógeno tipo 1 (PAI-1)	Rep.	Cit. Na + inh. Pt.	8-25 °C (<4 h)	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (2-4 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
7. Cofactor II de la heparina	Rep.	Cit. Na	<8 °C (<2 h) Baño de agua helada	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	2-8 °C (<2 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)
8. Trombomodulina (TM)	Rep.	Cit. Na	<8 °C (<2 h) Baño de agua helada	PPP	Cent. 2.500 g (15 min, 4 °C)	8-25 °C (2-4 h); -20 °C (1 m); -70 °C (>3 m, <1 a)

Claves y notas

h: horas; d: días; s: semanas; m: meses; a: año; Rep.: reposo; Ayun.: ayunas; Cit. Na: citrato trisódico; Cit. Na + inh. Pt.: citrato trisódico con inhibidores de función plaquetaria; Cit. Na + AP: citrato trisódico con antiproteasas; PRP: plasma rico en plaquetas; PPP: plasma pobre en plaquetas; Pt. L.: plaquetas lavadas; Conc. Pt.: concentrado de plaquetas; Sangre SA: sangre total sin anti-coagulante.

El espécimen para todas las magnitudes es sangre a excepción del tiempo de hemorragia (TH) que no utiliza espécimen propiamente dicho y se realiza *in vivo*.

El método de obtención del espécimen es punción venosa para todas las magnitudes, excepto el TH y el INR en sangre capilar (esta última se realiza por punción capilar).

Asimismo, se pueden determinar magnitudes hemostáticas en lactantes mediante punción capilar.

(a) Si se sospecha pseudotrombopenia, se debe hacer un recuento plaquetario en sangre Cit. Na.

(b) La congelación de PPP para INR conduce a opalescencia con determinados reactivos tras su descongelación.

Esta tabla ha sido tomada de: Batlle J, López Fernández MF. Manual de obtención, transporte y conservación de muestras biológicas en Hematología y Hemoterapia. AEHH-SETH 2003.

TABLA II. Estabilidad de ciertas magnitudes hemostáticas según algunos estudios

I. HEMOSTASIA PRIMARIA

Magnitud	Estabilidad del espécimen a temperatura ambiente	Estabilidad en la muestra			Comentario	Referencia
		-20 °C	4-8 °C	20-25 °C		
1. Recuento plaquetario y frotis	7 días		4 días			31, 50, 51

II. COAGULACIÓN

1. Tiempo de protrombina (TP)	4 horas-1 día	1 mes	8 horas-1 día	4 horas-1 día	Dependiente del tipo de reactivo	31, 40, 48
2. Tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA, tiempo de cefalina)	8-12 horas	1 mes	2-8 horas	2-8 horas	Estabilidad reducida en plasma heparinizado	21, 31, 40, 46
3. Tiempo de trombina (TT)	1-4 horas	1 mes	1 hora-2 días	1-4 horas	Estabilidad dependiente de reactivo y contenido de heparina	21, 23, 31, 40
4. Tiempo de reptilase (TR)		1 mes	4 horas	4 horas		31, 49
5. Fibrinógeno	8 horas	1 mes	1-7 días	1-7 días		31
6. Factor II		1 mes		6 horas		40
7. Factor V		1 mes	2 días	1 día	Centrifugación a 4 °C	21, 31, 40
8. Factor VII			Inestable	6 horas		40
9. Factor VIII		2 semanas	4 horas	3 horas	Centrifugación a 4 °C	21, 31, 40
10. Factor IX	1 mes			6 horas		40
11. Factor X		1 mes	Inestable	6 horas		41
12. Factor XI			Inestable	6 horas		40
13. Factor XII			Inestable	6 horas		40
14. Factor XIII		1 mes		4 horas		40
15. Productos de degradación del fibrinógeno/fibrina (PDF)	Inestable	1 mes	1 día	3 horas	Precisa 10 U trombina + 150 KIU kallikreí. Aprotinina o inhibidor tripsina de soja	36, 40, 44
16. Dímero D (D-D)	24 horas	6 meses	4 días	8 horas		40, 42, 43
17. Monómeros de fibrina soluble	24 horas	3 meses	1 día	2 horas		40, 45
18. Fibrinopéptido A			2 horas			40

III. INHIBIDORES DE LA COAGULACIÓN Y FIBRINOLISIS

1. Antitrombina (AT)	8 horas	1 mes	2 semanas	7 días		31
2. Proteína C (PC)		1 mes	7 días	7 días		31, 47
3. Proteína S (PS)		4 horas	4 horas	4 horas		31, 40, 42

Esta tabla ha sido tomada de: Batlle J, López Fernández MF. Manual de obtención, transporte y conservación de muestras biológicas en Hematología y Hemoterapia. AEHH-SETH 2003.

Sin embargo, si el procedimiento de la obtención de la muestra representara una afectación de la integridad corporal de tal entidad que pudiera poner en peligro la salud del sujeto, no se podría justificar su empleo en aras de la investigación científica, ni tan siquiera con el consentimiento del sujeto, aunque no debe descartarse como finalidad secundaria o residual.

En ocasiones, por ejemplo, dentro de ensayos clínicos, se propone la obtención de muestras –en algunos casos mediante biopsias– con una frecuencia que es mayor de la habitual para el seguimiento y el control de un paciente normal. En esos casos, los Comités Éticos de Investigación Clínica deben valorar los riesgos que supone la obtención de muestras adicionales y cuando se considera que está justificada, así como asegurar que la información que recibe el paciente sea completa y que incluye la explicación de dicha toma de muestras con más frecuencia de la imprescindible.

Si el procedimiento de obtención no afectase de este modo a la integridad corporal, se debe mantener la posibilidad de donación con la finalidad de investigación científica y, a este respecto, será preciso valorar los riesgos de dicha operación (una extracción de sangre, por ejemplo, sería una intervención aceptable a estos efectos).

En el caso de los fallecidos, la finalidad de investigación científica justifica la obtención de órganos, tejidos y otras partes del cuerpo que, además, se presupone consentida por el sujeto en vida, postura que se ha mantenido en la legislación española (artículo 5.2 de la Ley de extracción y trasplante de órganos: “La extracción de órganos u otras piezas anatómicas de fallecidos podrá realizarse con fines terapéuticos o científicos, en el caso de que éstos no hubieran dejado constancia expresa de su oposición”; y artículo 8 del Real Decreto 411/1996). Esta justificación o presunción se refiere a la utilización de las muestras y no de los datos, por lo cual la muestra ha de ser anónima.

2.3. La gratuidad de la donación

Como propiedad de una persona, las muestras biológicas pueden ser objeto de contratos. Sin embargo, por determinados criterios cabe imponer limitaciones a los mismos en función de su origen humano y de la diferencia entre unas partes del cuerpo y otras.

De su origen humano deriva que se deban tener en cuenta la incidencia en el derecho a la integridad (si es que se ha de proceder a la separación del cuerpo), así como el respeto a la dignidad humana (en el que incide la finalidad del contrato y que podría vulnerarse incluso si por motivos espurios el titular se perjudicara a sí mismo) y a la autodeterminación (puesto que se ha de poder decidir sobre el destino y uso de la muestra).

Estas razones justifican la exclusión de los órganos y tejidos no regenerables de los negocios jurídicos onerosos, o bien de los regenerables cuya obtención requiera un procedimiento invasivo, en tanto en uno y otro caso se produce un menoscabo para la integridad del sujeto.

Pero cabe preguntarse por qué aplicarla a la materia biológica regenerable cuya separación del cuerpo no incida en la salud ni represente daño personal (de hecho, incluso las concepciones más restrictivas en relación con el derecho a la disponibilidad del propio cuerpo han aceptado tradicionalmente que las sustancias corporales sean objeto de contratos onerosos, como el contrato de lactancia o la venta de cabello). Lo cierto es que esta materia no parece que deba excluirse del tráfico y, por lo tanto, por ejemplo, el pelo podría venderse como se venden las cosas de titularidad privada. Por este mismo criterio, también podría defenderse que fueran objeto de negocio las sustancias de desecho (como la placenta), los tumores extraídos en una operación, las muestras obtenidas para análisis o los gametos masculinos (la obtención de óvulos requiere procedimientos invasivos para su obtención y tratamientos previos con posibles incidencias en la salud de la mujer).

No obstante, el comercio de la materia humana se debe restringir por otros criterios para evitar desviaciones en su uso de las que deriven riesgos potenciales de distinta índole, como pudiera ser la desigualdad o discriminación en el acceso a los tratamientos médicos derivada de la diferencia de recursos. Así, cuando la obtención de esta materia se dirija a satisfacer intereses no comerciales o el ejercicio de derechos fundamentales, no se debe introducir en el comercio. Por el contrario, cuando este uso no responda a estos intereses, no existirá inconveniente en calificarla como objeto de negocio jurídico siempre, claro está, que se trate de materia regenerable. En definitiva, sólo si se pretende utilizar material biológico regenerable obtenido sin procedimientos que representen riesgos para la salud, con fines cosméticos o industriales, el titular podrá venderlo (o sacar algún tipo de provecho económico de su donación, como participar en la explotación comercial de una patente registrada a partir de las investigaciones con su ADN). Si la finalidad es terapéutica, de investigación científica o de reproducción humana, el titular no podrá vender el objeto de su propiedad.

En consonancia con este razonamiento, la transmisión de la propiedad de órganos, tejidos y células destinados meramente a la investigación científica ha de ser gratuita, sin perjuicio de que suele admitirse una compensación económica por los gastos o molestias sufridas. Tampoco podrá cobrarse una contraprestación cuando se cedan las muestras a otros investigadores, lo que no impide que el profesional que cede la muestra pueda exigir el pago de los gastos de transporte y conservación de la muestra.

3. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

3.1. Procedimientos técnicos para la preparación de las muestras

3.1.A. Tejidos y tumores

A.1. Para cualquier tipo de muestra

- Se aconseja el uso de guantes estériles a lo largo de todo el proceso para evitar la contaminación de la muestra por manipulación y para minimizar el riesgo de infección causado por la misma, ya que no siempre se conocerá su capacidad infecto-contagiosa.

- Si se dispone de una cámara de flujo laminar, se debe llevar a cabo el procesamiento de la muestra en la misma para mantener la deseada esterilidad.
- Se debe utilizar una base limpia para el manejo de las muestras (por ejemplo, papel de filtro desechable).
- Asimismo, en el caso de muestras sólidas, es recomendable tomar improntas y/o extensiones sobre portaobjetos de cada muestra, algunos de los cuales se pueden fijar en alcohol o acetona y almacenar para su uso en diferentes estudios, o bien teñir para un control rápido de la calidad del tejido/muestra seleccionada para el archivo.
- Se recomienda el uso de cuchillas de bisturí desechables y nuevas, tijeras bien afiladas y limpias, así como pinzas en las mejores condiciones, preferentemente esterilizadas. Además, este material se debe cambiar tras cada muestra, incluso entre la muestra de tejido normal y tumoral de un mismo paciente. En caso de que se utilice una misma pieza del instrumental para ambas, resulta aconsejable realizar primero la toma de tejido normal.
- La toma de los fragmentos tisulares se hará en las áreas donde no se sospeche la existencia de fenómenos de necrosis o isquemia que redunden en una pobre preservación.

A.2. Para muestras específicas

Tomando como modelo de tumor sólido infantil el neuroblastoma, se presentan las siguientes recomendaciones técnicas generales en el manejo del material tisular.

A.2.1. Consideraciones generales

El tumor debe ser remitido desde el quirófano al laboratorio de Anatomía Patológica en condiciones estériles lo más pronto posible.

El manejo y el tallado del tumor siempre han de ser realizados por el patólogo. De forma ideal, se debe extraer material de dos áreas macroscópicas diferentes para los estudios biológicos y de patología molecular.

Esta recomendación es especialmente interesante en el caso de que existan nódulos macroscópicos, como es el caso del ganglioneuroblastoma nodular, en el que la heterogeneidad de los mismos tiene impacto pronóstico.

A.2.2. Consideraciones específicas

1) Material de resecciones completas:

- En el caso de una resección completa del tumor, se debe seccionar la neoplasia a lo largo del diámetro máximo, tomando dos secciones de dos áreas morfológicamente diferentes (1 cm x 1 cm x 1 cm). Asimismo, se identifican estas secciones con letras mayúsculas (A y B, por ejemplo). A su vez, cada una de estas secciones se fragmenta en cuatro partes: A1, A2, A3, A4, B1, B2, B3, B4.

- En las muestras A1 y B1 se realizan diez improntas citológicas que se fijan al aire y se congelan a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para estudios de hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH) y citometría estática. Posteriormente, estos dos fragmentos se fijan en formaldehído con objeto de efectuar su estudio histopatológico y el recuento celular para establecer el porcentaje de células tumorales, células normales, focos de necrosis o calcificación, etc., información que es fundamental para la interpretación de los estudios biológicos.
- Las muestras A2, A3, B2 y B3 se congelan con nitrógeno líquido y se almacenan a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Antes de usar estas secciones para estudios biológicos, se deben realizar cortes por congelación a fin de establecer el recuento celular.
- Las muestras A4 y B4 se introducen en medio de cultivo RPMI 1640 con el objetivo de preparar suspensiones celulares que pueden servir para el cariotipado convencional y estudios de MYCN y del 1p en preparados celulares de citocentrífuga. En estos casos, también es necesario conocer el porcentaje de células tumorales, por ejemplo, mediante la técnica inmunohistoquímica de marcaje con GD2, NB84 o tirosín-hidroxilasa.
- El resto del espécimen quirúrgico será incluido para su estudio histológico convencional, con un análisis exhaustivo de las áreas centrales y periféricas del tumor, así como de los márgenes quirúrgicos de refección.

2) Material tumoral de neoplasias irresecables:

- **Biopsias a cielo abierto:** en estos casos, el cirujano debe obtener material de dos áreas diferentes del tumor. Si el espécimen es mayor de 1 cm^3 , se seccionará en cuatro partes que se procesarán siguiendo el modelo explicado en el apartado anterior. Si el material obtenido es más pequeño, se intentará dividir en tres fragmentos: uno para improntas y estudio histológico, otro para ser congelado, y el tercero para incluirlo en medio RPMI 1640.
- **Biopsias *tru-cut*:** preferentemente, se deben obtener cuatro fragmentos de áreas tumorales diferentes. El tamaño de la aguja recomendado es de 18 G. El patólogo debería estar presente junto al radiólogo para evaluar la calidad del material obtenido y realizar un recuento celular del material utilizado para estudios biológicos.

Los especímenes deben medir 1 cm de longitud y tener un grosor como mínimo de 0,1 cm. El procedimiento ideal para evitar artefactos consiste en colocar la aguja en un tubo con medio RPMI 1640, Hanks o PBS y agitar hasta que el cilindro sea liberado hacia el medio. Para evaluar la calidad del material y establecer el porcentaje celular, sería ideal que la biopsia por *tru-cut* estuviera precedida por una punción mediante aspiración con aguja fina (PAAF) de la zona. En el caso de obtener cuatro fragmentos, dos de ellos se fijan en formol al 4% y se incluyen en parafina para su estudio histológico e inmunohistoquímico. Los dos fragmentos restantes se congelan a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ después de ser embebidos en un medio soluble tipo OCT para realizar secciones congeladas.

Otro método alternativo es dividir cada fragmento en dos partes iguales: una de las cuales se fija en formol y la otra se congela. Las improntas citológicas se pueden realizar directamente del material congelado, seguidas de un corte por congelación para establecer la calidad del material y el recuento celular.

- **PAAF:** en general, se recomienda realizar dos punciones separadas con un tamaño de aguja de 0,6-0,7 mm (22-23 gauge). Dependiendo de la cantidad del aspirado, se colocará una gota en cuatro portaobjetos y, mediante extensiones, se dejarán secar al aire. La aguja y el resto del aspirado se introducirán en un tubo con 1 mL de PBS y la suspensión obtenida se introducirá en un vial Eppendorf. Una extensión de cada aspirado se teñirá con Diff-Quick para una evaluación rápida del material obtenido. El resto de las extensiones se utilizarán para inmunocitología, FISH y citometría estática. Se debería analizar, morfológicamente o inmunocitoquímicamente, una extensión de cada aspirado para el estudio del recuento celular. Las suspensiones celulares se utilizarán para citometría de flujo, cultivo, citogenética, o bien para obtener preparados de citocentrífuga que, una vez secados al aire, se congelarán para futuros análisis biológicos.

3.1.B. ADN y ARN

Para estudios moleculares en Biomedicina se puede utilizar tanto el ADN como el ARN, pero hay que saber en cada momento cuál de estas moléculas es la necesaria para una investigación determinada. Por ello y con respecto al ADN, conviene recordar que hay dos tipos de mutaciones: las mutaciones germinales, que están en todas las células y se transmiten a la generación siguiente, y las mutaciones somáticas que no se transmiten y que suelen aparecer *de novo* en un individuo y en algún tipo celular del mismo. De ahí que sea importante conocer, en cada caso, no sólo cuál es la molécula de elección, sino también cuál es la muestra más adecuada para obtener esa molécula. Sin embargo, se dispone hasta la fecha de poca información para los investigadores en este campo. Además, hoy en día, en la mayoría de los análisis se parte de la PCR o de la reacción en cadena de la polimerasa, capaz de amplificar el ADN de una sola célula. Esta extraordinaria sensibilidad introduce un riesgo de contaminación por otra muestra de otra procedencia, por lo que es necesario de forma general una esterilidad rigurosa y un cuidado exquisito en la manipulación de las mismas.

B.1. ADN

B.1.1. Muestras a partir de las cuales se realiza la extracción de ADN

Todos los siguientes tipos de muestras –entre otros– pueden servir para el estudio del ADN. La relación incluye los más frecuentemente utilizados:

1) Sangre periférica: las más empleadas son las células nucleadas de la sangre para extraer el ADN genómico, ya que son las de más fácil acceso y proporcionan un ADN abundante y de alta calidad. De preferencia, la sangre ha de ser total, sin haber separado sus componentes, y sin coagular, lo que se consigue colocándola en tubos con el anticoagulante EDTA (ácido etilendiaminotetracético). El EDTA actúa evitando la coagulación y quelando los iones calcio, lo cual previene la acción de las endonucleasas del ADN dependientes del calcio. Sin embargo, otros anticoagulantes, como la heparina o el ácido cítrico, pueden producir también resultados acep-

tables. Se han de sacar aproximadamente 10 mL de sangre total periférica del brazo en uno o dos tubos con anticoagulante EDTA. La cantidad suele ser menor si se trata de un niño pequeño. En realidad, la cantidad necesaria de ADN para realizar estudios genéticos es muy pequeña y con sólo unos pocos microgramos se pueden realizar multitud de estudios, tales como estudios de secuenciación, de microsátélites, de polimorfismos de cambios de una sola base (SNPs), y hasta estudios de genes por *Southern*. Pero, si lo que se quiere es dejar ADN en un banco para posteriores estudios, se debe recomendar extraer los 10 mL como la cantidad mínima requerida. El paciente o donante no tiene que estar en ayunas y no necesita ningún tratamiento previo. Por último, se debe etiquetar perfectamente el tubo de sangre e identificarlo preferentemente con el código que, en cada caso, se establezca en cada laboratorio o biobanco.

Una alternativa a la sangre fresca es la extracción de ADN de células sanguíneas a partir de sangre seca conservada en las llamadas *Guthrie Cards*. Desde hace más de diez años, este tipo de muestras se han utilizado sobre todo en los estudios de cribado neonatal. Las manchas de sangre seca contienen un ADN muy estable en el tiempo, de fácil manejo, transporte a temperatura ambiente y obtención; asimismo, salvo los problemas éticos derivados del consentimiento informado –que no son objeto de este capítulo–, hoy en día sirven para numerosos estudios epidemiológicos.

2) Células epiteliales bucales: otra fuente de extracción de ADN son las células epiteliales bucales mediante raspado del interior de la boca o el centrifugado de un enjuague bucal. Diversos sistemas se han propuesto para recuperar las células epiteliales bucales, ya que se usan cada vez más debido a la no invasividad de la toma de la muestra. Entre ellos, el enjuague bucal parece que asegura una mayor cantidad, calidad y estabilidad del ADN, incluso si éste se extrae cinco días después del enjuague. Se ha demostrado, asimismo, que se obtiene mucha mayor cantidad de ADN si el enjuague se hace antes de lavarse los dientes.

3) Raíces de cabello: por la misma razón anteriormente expuesta de no utilizar técnicas invasoras, también se pueden utilizar raíces de cabello, que se extraen mediante un simple tirón, para obtener ADN genómico completo. Los cabellos se colocan en sobres vacíos bien etiquetados y se pueden mantener de esta forma durante casi una semana hasta la extracción del ADN.

En estos últimos casos, la cantidad de ADN extraída podría ser insuficiente para algunos análisis (como los análisis por *Southern Blot*), aunque los estudios por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y los análisis de SNPs dan solución a muchos de estos problemas.

4) Biopsia de tejido: sólo en el caso de querer estudiar mutaciones somáticas en las que un solo tejido está alterado, es necesario extraer el ADN genómico del propio tejido afectado (por ejemplo, en algunos tumores), puesto que en sangre total no se detectaría la mutación. Éste es el caso también de los aspirados de médula ósea utilizados en Hematología. Lo ideal es que el tejido llegue al laboratorio

en fresco (por ejemplo, directamente del quirófano en el caso de la extracción de un tumor) y se procese de inmediato, o se congele para su conservación hasta la extracción, bien a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, bien directamente sumergiéndolo en nitrógeno líquido. El cirujano sólo tiene que sumergir un mínimo fragmento de tejido –si éste es sólido– en un tubo estéril que contiene una solución de suero salino fisiológico y enviarlo de inmediato al laboratorio. Una descripción detallada de cada técnica de extracción para cada tejido supera el propósito de este capítulo. Pero también se consigue aislar ADN de manera satisfactoria a partir de especímenes patológicos históricos conservados en parafina, así como de muestras en formol, y hasta de aquellas momificadas para estudios antropológicos. La calidad del ADN que se obtiene, en estos casos, de los tejidos depende de la edad del tejido y de las condiciones de conservación. Con frecuencia el ADN de muestras de tejidos está parcialmente degradado y tiene un peso molecular menor que el del ADN extraído de la sangre. Sin embargo, una vez más, los estudios de SNPs y otros por PCR están dando solución a estos problemas.

5) Vellosidades coriales: la biopsia de las vellosidades coriales, al ser de origen fetal, es la mejor fuente de ADN de un feto y se suelen utilizar para el diagnóstico prenatal. La extracción de vellosidades coriales la realizan los ginecólogos con la ayuda guiada por ecografía. La madre gestante no necesita ninguna preparación especial ni tiene que estar en ayunas. La muestra extraída, tanto transcervicalmente como por aspiración transabdominal, se coloca inmediatamente en un tubo estéril que contiene una solución de suero salino fisiológico. Por tener que atravesar tejidos maternos, puede haber células maternas contaminantes, por lo que hay que limpiarla concienzudamente bajo un microscopio binocular de bajo aumento.

6) Líquido amniótico: también se pueden utilizar para el diagnóstico prenatal las células contenidas en el líquido amniótico extraído por medio de una amniocentesis o punción transabdominal ecoguiada. Como las células no son abundantes, se suelen cultivar, lo que enlentece el estudio prenatal; de ahí deriva su menor uso. Pero para según qué diagnósticos o usos de investigación, nuevamente las técnicas de PCR y de SNPs solventan este problema.

B.1.2. Preparación-extracción del ADN

Como existe una gran variedad de fuentes a partir de las cuales se puede obtener ADN, se han desarrollado protocolos muy diversos que se pueden llevar a cabo mediante sistemas automáticos o manuales. Las técnicas de extracción de ácidos nucleicos son relativamente sencillas y, básicamente, las mismas para todo tipo de células. En todos los casos, el objetivo es obtener la máxima cantidad de ADN y de óptima calidad y pureza.

Así, todo protocolo:

- En primer lugar, empieza por romper o lisar las células, ya sea por métodos mecánicos o químicos.

- Posteriormente, se incuban las células con una proteinasa para extraer las proteínas del ADN.
- A continuación, se separan el ADN y el ARN del resto de los constituyentes de la célula, utilizando bien una mezcla con fenol, bien una solución salina sobresaturada. La forma de extracción más habitual es mediante el sistema llamado de precipitación con fenol-cloroformo, donde los ácidos nucleicos se distinguen de las restantes sustancias bioquímicas que no se disuelven en fenol. Por este motivo, tras una centrifugación, el fenol se separa de la fase acuosa; las proteínas y las grasas permanecen en el fenol, y el ADN y el ARN en la fase acuosa. Los restos de fenol se eliminan con cloroformo, porque el fenol se disuelve en el cloroformo, mientras que los ácidos nucleicos permanecen en la fase acuosa.
- Finalmente, una vez conseguida una solución relativamente pura de ácidos nucleicos, la adición de sal y etanol frío hasta elevar la concentración de etanol al 66% hará que el ADN se vuelva insoluble y precipite. El ADN genómico tiene tal peso molecular que ese precipitado es visible, semejante a un trozo de algodón (si hay suficiente material), y puede ser extraído fácilmente de la solución con un gancho de vidrio y disuelto de nuevo en una disolución de agua y ácido etilendiaminotetracético (EDTA), listo para su análisis o conservación.

Las fuentes a partir de las cuales se obtiene ADN son:

1) Sangre periférica: los leucocitos representan la mayor fuente de ADN para los estudios de rutina en medicina. Los núcleos de los leucocitos se extraen mediante centrifugación y tan sólo es necesario evitar toda destrucción enzimática o mecánica de los mismos.

A partir de 10 mL a 30 mL de sangre recogidos en anticoagulante, preferentemente EDTA, se obtienen algunos cientos de microgramos de ADN en forma de fragmentos de una talla superior a 20 kb, los cuales son suficientes tanto en cantidad como en calidad para realizar muchos y diversos estudios a partir de la muestra almacenada en el banco.

Ya se ha dicho que para obtener buenos resultados lo ideal es que la sangre se procese en las 24 horas siguientes a la extracción. Pero, en el caso de que la muestra llegue congelada para la extracción del ADN, es primordial que la descongelación se realice justo antes de que se vaya a comenzar con la extracción. En ambos casos, se ha de lavar la sangre completa previamente con una solución salina de suero fisiológico y, mediante centrifugaciones sucesivas, se va recogiendo el botón celular. Posteriormente, esa masa celular se mezcla vigorosamente con una solución hipotónica (normalmente agua destilada) para producir la lisis de los eritrocitos, y los leucocitos se recuperan nuevamente por centrifugación.

En este punto del proceso, nuevamente y si es necesario, se pueden congelar los leucocitos sin ningún problema a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta poder seguir con el proceso.

A continuación (o descongelando previamente el botón celular a temperatura ambiente), se añade un tampón de lisis de leucocitos, SDS (dodecil sulfato de sodio al

10% P/V, que es un detergente) y una solución de proteinasa K, y se incuba durante toda la noche a 37 °C. La proteinasa K es una proteinasa muy activa que libera el ADN nuclear al medio y digiere las proteínas que estaban asociadas a él. Posteriormente, el ADN se somete a una serie de extracciones que ya se han comentado (fenol-cloroforno V/V) y se precipita con alcohol etílico frío (-20 °C).

Trabajando en las cantidades indicadas, el ADN precipita en forma de filamentos visibles a simple vista, que se recuperan con una pipeta Pasteur con el extremo en forma de ganchillo o con asas de siembra microbiológicas. A partir de este momento, el ADN ha de disolverse de nuevo en una solución amortiguadora de TE (trishidroximetilaminometano: 2 mol/L; EDTA: 0,25 mol/L; pH: 7,5), manteniendo la mezcla en agitación suave, a 37 °C durante dos horas. A continuación, se observa si la muestra está bien disuelta y, si no lo está, se mantiene a temperatura ambiente un día o dos más. Finalmente, el ADN disuelto se cuantifica y se realizan las técnicas analíticas correspondientes o se conserva directamente en el banco a -70 ó -80 °C.

Otra posibilidad de extracción, menos utilizada porque deja más impurezas, pero también menos contaminante y más sencilla, consiste en suprimir la etapa fenólica. En este protocolo, la eliminación de las proteínas celulares se lleva a cabo mediante la deshidratación y precipitación de las mismas con una solución saturada de cloruro sódico. Se realiza una emulsión con esa solución y, tras centrifugar, las proteínas precipitadas quedan formando un botón en el fondo del tubo, con lo que el sobrenadante que contiene el ADN se transfiere a otro tubo. Finalmente, el ADN se precipita igual que en el método anterior.

En los últimos años, debido al auge que han tomado las técnicas de ADN y a la cada vez mayor cantidad de extracciones que se realizan, se han comenzado a comercializar los llamados “robots”, que son aparatos que realizan automáticamente todos estos pasos. Su eficacia se basa en que permiten extraer de la sangre el ADN muy puro y sólo en unas cuantas horas, así como tratar numerosas muestras simultáneamente. En los casos de genotipado masivo y de creación de nuevos bancos de ADN, es una opción rentable, no así para los laboratorios clínicos hospitalarios pequeños. Entre los diversos modelos se pueden citar el *Applied Biosystems 380A*, el *Whatman SNAP extraction system* y el *Genra Autopure LS*, entre otros.

2) Sangre fresca transformada por medio del EBV: si la sangre llega fresca al laboratorio y es de especial interés su conservación, se pueden transformar los linfocitos –es decir, hacerlos inmortales– por medio del virus Epstein-Barr, y mantenerlos de este modo congelados en forma de cultivos hasta la extracción del ADN. Esto garantiza una fuente inagotable de ADN, lo que es importantísimo en patologías en las que la persona va a fallecer (estudios para el cáncer), en aquellas en las que la patología molecular es muy infrecuente (enfermedades raras), o bien para inmortalizar poblaciones enteras. En los grandes bancos de ADN y en los grandes equipos de investigación genómica, ésta ha de considerarse una práctica habitual, no así en los hospitales o centros pequeños. No corresponde a este capítulo indicar el protocolo de transformación celular, aun así una vez transformadas las células se congelan habitualmente en su medio de cultivo, el RPMI con un 30% de suero y un 6-10% de DMSO, y para la extracción del ADN se descon-

gelan a temperatura ambiente, se centrifugan y el botón celular se trata de la misma forma en que se ha expuesto previamente.

3) Tejido o células en cultivo: los tejidos humanos o animales son una fuente muy buena de ADN genómico por su alta densidad celular. Por ejemplo, un gramo de tejido hepático contiene aproximadamente 10^9 células cuando, para obtener un número equivalente de células nucleadas sanguíneas, se requeriría aproximadamente un litro de sangre. Sin embargo, presentan el inconveniente de la facilidad de degradación de los ácidos nucleicos, lo que se soluciona procesándolos tan pronto como sea posible tras su recogida, o bien congelándolos de inmediato como ya se ha descrito.

Para la extracción de ADN de los tejidos, se requieren unos procesos preliminares para romper el tejido en trozos finos a partir de los cuales las células se pueden lisar y el ADN queda liberado. Esto se puede realizar, bien picando finamente la muestra, bien rompiéndola por homogeneización, bien aplastándola en un mortero en el caso del tejido congelado (con lo que se rompe en trozos pequeños). En todo caso, los trozos se incuban durante 24 horas con SDS y proteinasa K (al igual que lo indicado para la sangre periférica) y, finalmente, el ADN se precipita con el sistema fenol-cloroformo.

Si la muestra es fresca y no muy grande, se puede cultivar. Son numerosos los protocolos de cultivos celulares existentes, puesto que dependen del tipo de tejido cultivado. Generalmente, si se trata de cultivos en “monocapa”, la disgregación que se ha de hacer para la extracción del ADN suele ser a base de tripsina, con lo que se consigue tener las células en suspensión y tratarlas a partir de ese momento como en el punto anterior. Con este sistema, se pueden obtener cientos de microgramos de ADN en función del tiempo de cultivo y de lo perecedero del mismo.

Muchos tejidos recogidos a partir de los Departamentos de Patología están generalmente embebidos en parafina. El ADN en estas muestras es estable durante muchos años, aunque está fragmentado. Para trabajar con estas muestras y antes de extraer el ADN, hay que realizar secciones con un microtomo y, a este material, se le ha de quitar la parafina mediante un tratamiento con xileno. El resto de la técnica es idéntica a la descrita para los apartados anteriores. De una biopsia de algunos miligramos, se recuperan varias docenas de microgramos de ADN. Se puede enriquecer la muestra mediante un microdisector láser.

Existen publicados numerosos protocolos de variantes de la técnica general que intentan recuperar el ADN lo menos degradado posible. Por ejemplo, se ha descrito una técnica en la que no hace falta la desparafinación previa de la muestra y que da resultados bastante buenos, simplemente modificando el protocolo de extracción mediante incubación con proteinasa K entre 24 horas y cinco días. La cantidad de ADN que se obtiene es óptima y de un tamaño que puede alcanzar las 5 kb.

Existen en el mercado muy diversos kits de extracción comercializados que también facilitan el proceso. Generalmente, se obtiene con ellos una pureza muy buena de ADN, si bien menor cantidad que con las técnicas manuales, por lo que su uso depende del tipo de laboratorio y del tipo de material que se esté procesando.

Las vellosidades coriales utilizadas en el diagnóstico prenatal pueden ser un material muy valioso en un banco si el ADN fetal es patológico –ya que muy probablemente el feto no llegará a nacer–, considerándose un tejido biológico y, por consiguiente, todo lo dicho anteriormente sirve para este tipo de muestras con pequeñas modificaciones. Cabe señalar, de todas formas, que en este caso la extracción del ADN se realiza inicialmente sólo con el fin de elaborar un diagnóstico prenatal, por lo que se ha de efectuar siempre de inmediato.

Se colocan las vellosidades en una placa de Petri con un poco de suero fisiológico y, utilizando una lupa, se ha de eliminar la posible contaminación por tejido materno; a continuación, se procede a la homogeneización de la muestra de forma mecánica, tal y como previamente se ha indicado. En el caso de que existan restos hemáticos –abundantes si la extracción de las vellosidades ha sido realizada por vía transabdominal– se han de efectuar una o varias lisis de eritrocitos con el correspondiente tampón. Es muy importante insistir en la eliminación por completo de los posibles restos de contaminación materna, puesto que a la hora de realizar el diagnóstico prenatal podría llevar a graves errores por la mezcla de ADN fetal y materno.

Posteriormente, se efectúa la digestión, como siempre con proteinasa K, pero en una solución amortiguadora que contiene urea, NaCl (cloruro sódico), EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), Tris (trishidroximetilaminometano) y SDS (dodecil sulfato de sodio), lo que ayuda a la desnaturalización y a la digestión de las proteínas. Finalmente, se realiza la precipitación del ADN tal y como se ha indicado anteriormente.

4) Células bucales y raíces de cabello: en este caso, las muestras han de llegar frescas al laboratorio o, más recientemente, se ha descrito una técnica por la que se recolectan las células en filtros semejantes a las *Guthrie Cards*. En cualquier caso, son numerosos los protocolos que existen para una recolección óptima de las células y, a partir de ellas, del ADN. El problema que intentan resolver es la poca cantidad de muestra que, habitualmente, ronda los 0,2-6 microgramos totales obtenidos de ADN. Pero los mayores avances en este campo se centran últimamente, ya no en la extracción del ADN que existe realmente, sino en la técnica llamada PEP (*primer extension preamplification*), que permite amplificar completamente el genoma (WGA) y, de esta forma, partir desde el inicio de una cantidad de ADN mucho mayor pero producida *in vitro*.

Lo mismo se puede decir en el caso de las raíces de cabello. Una raíz fresca contiene aproximadamente de 0,2 a 0,5 microgramos de ADN, que no es una cantidad suficiente para realizar las técnicas utilizadas en Biología Molecular, como es el *Southern Blot*, pero sí adecuada para su uso en la técnica de la PCR (reacción en cadena de la polimerasa). De ahí que las técnicas de PEP y de WGA se estén imponiendo en este campo.

La extracción del ADN en este caso se realiza introduciendo la raíz de pelo en un tubo que contenga una solución amortiguadora y proteinasa K. Para la digestión de las proteínas se ha de calentar la muestra a 60 °C durante 30 minutos. Posteriormente, se hierve durante 20 minutos para desnaturalizar la proteinasa K y se toma una alícuota para realizar la amplificación del ADN mediante la PCR o la PEP.

B.2. ARN

B.2.1. Extracción del ARN

El ARN mensajero se encuentra sólo en aquellos tejidos en los que se expresa; en consecuencia, si se quiere estudiar cómo incide una mutación en la funcionalidad de una célula, se tendrá que acudir al órgano específico. Por esta razón, se debería saber extraer ARN de todo tipo de tejidos aunque muchos genes se expresen también en sangre periférica.

Hay que tener en cuenta, no obstante, una particularidad muy especial del ARN: la facilidad de degradación enzimática de esta molécula por medio de las ribonucleasas. Las ribonucleasas son enzimas muy estables y activas presentes en múltiples sistemas biológicos (incluidas bacterias y hongos ambientales) que, por lo general, no requieren cofactores. Por lo tanto, las precauciones que han de tomarse a la hora de extraer una muestra para obtener ARN deben ser extremas. Todo el material que entre en contacto con la muestra (tubos, frascos, jeringas, agua, soluciones, etc.) ha de estar libre de RNAsas y completamente esterilizado. Como precaución adicional es bueno, además, que los materiales y las soluciones hayan sido tratadas con los inhibidores de las RNAsas, como el dietil pirocarbonato (DEPC) al 0,1%.

Con respecto a los tejidos líquidos (sangre y aspirado medular), éstos se han de anticoagular para realizar una buena obtención del ARNm, lo que hasta hace poco se lograba, igual que para el ADN, simplemente con EDTA. Recientemente, han salido al mercado diversos tubos especiales de varias casas comerciales, para la recogida de muestras, que combinan el anticoagulante con reactivos que mantienen la estabilidad del ADN y que, además, se encuentran libres de RNAsas.

En cuanto a los tejidos sólidos, se debe hacer la extracción del ARN de inmediato o congelar dichos tejidos antes de la extracción. En este último caso y para obtener el ARN, el método de congelación de elección es la inmersión directa en nitrógeno líquido de la biopsia de tejido. Como en el caso del ADN, si el procesamiento es inmediato, el tejido se coloca en tubos con suero fisiológico, pero además se añaden inhibidores de las RNAsas, DEPC, etc.

Finalmente, resta comentar que puede ocurrir que el clínico que realice una extracción de muestra para estudios moleculares no sepa si en el laboratorio se van a utilizar muestras de ADN o de ARN. En este caso, quien realiza la extracción deberá siempre aplicar las precauciones de la muestra con más riesgo de perderse, esto es, se han de seguir los protocolos del ARN.

B.2.2. Preparación de ARN total

El aislamiento y el almacenamiento del ARN son herramientas de suma importancia dentro de la investigación en Biología Molecular, ya que posibilita la realización de estudios de expresión génica y de cambios en la misma.

Debido a la facilidad de degradación del ADN es indispensable que, en el proceso de extracción y en cualquier tipo de muestra o tejido, se tomen todas las precauciones necesarias en el laboratorio valorando las posibles fuentes de contaminación con RNAsas y actuando en consecuencia para evitarlas:

- **Las superficies de trabajo:** representan una fuente de contaminación al estar expuestas al ambiente (bacterias, hongos y células humanas) y, por ello, es necesario tratar todas las superficies con soluciones inhibitoras de la RNAsa. En general, suele servir la limpieza con etanol al 70% y aplicar un producto comercial llamado RNase Zap® de Sigma. Esta limpieza se ha de hacer en todas aquellas superficies de contacto, tales como la campana de flujo, el plástico, las pipetas, la centrífuga, etc. Para una mayor esterilización de la superficie de trabajo, antes y después de la manipulación, se debe dejar actuar además una luz UV durante más de tres horas.
- **Contaminación corporal:** puede suceder tanto por los fluidos (saliva o sudor) como por la piel. Contienen una elevada concentración de RNAsas, por lo que es necesaria la utilización de guantes estériles durante cualquier manipulación del ARN. Asimismo, deben cambiarse frecuentemente a lo largo del proceso y siempre que se entre en contacto con cualquier otra superficie.
- **Material fungible con el que se realiza la extracción** (tales como tubos y puntas): son también una fuente de RNAsas que se debe evitar, para lo cual se utilizan en todo momento materiales certificados libres de nucleasas, puesto que no es suficiente el autoclave en estos casos por tratarse de enzimas termorresistentes que se mantienen estables a temperaturas superiores de 100 °C.
- **Buffer y agua:** es necesario asegurarse de que todos los *buffers* y el agua utilizados están certificados libres de nucleasas.

Además de la posible contaminación por RNAsas, es indispensable evitar la contaminación por ADN, ya que los extractos de ácidos nucleicos contienen también nucleasas y ribonucleasas en altas concentraciones.

Igualmente, al evitar el contacto con el ADN se evitan falsos positivos en la extracción de ARN. Para ello, es necesario tomar también las siguientes medidas:

- Separar, en la medida de lo posible, la zona de trabajo del ADN de la del ARN.
- Utilizar un juego de pipetas automáticas exclusivas para la manipulación del ARN.
- Usar puntas estériles con filtro para evitar la contaminación del extremo de la pipeta.
- Incubar con DNAsa durante la extracción del ARN para eliminar los posibles restos de ADN. Los ácidos nucleicos, que son estables en la célula intacta, llegan a ser muy vulnerables a la digestión por las nucleasas endógenas.

Siguiendo todas estas precauciones, las técnicas de extracción de ARN, en general, consisten en un primer paso para obtener células lo más limpias posibles que, posteriormente, se lisarán para obtener el ARN. Estas células –que pueden ser los leucocitos de la sangre periférica o las células de cualquier otro tejido–, una vez homoge-

neizadas, se pueden congelar a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ sin que la diferencia afecte significativamente a la extracción del ARN. Es aconsejable el proceso de la congelación en alícuotas, dada la inestabilidad del ARN, para asegurar que mientras se trabaja con un tubo no se estropean los demás.

A partir de ahí, hoy en día se aconseja aislar el ARN a partir de esos botones celulares con algún kit comercializado a tal efecto que permita asegurar las extremas condiciones de seguridad del protocolo de trabajo descrito. Existen diversos kits en el mercado, todos los cuales básicamente comprenden los mismos pasos esenciales:

- **Lisis eficaz de las células y desnaturalización de los complejos de nucleoproteínas presentes en los extractos celulares:** se utiliza para ello una combinación de detergente (SDS) con tiocianato de guanidina (TCG), que inactiva las RNAsas y permite así que el ARN quede en solución y aislado de las proteínas.
- **Inactivación de la actividad de las ribonucleasas presentes en la célula:** se lleva a cabo con la combinación de TCG y beta-mercaptoetanol.
- **Eliminación de las proteínas:** este paso se realiza gracias a la precipitación de las proteínas celulares a altas concentraciones de TCG mientras el ARN permanece en solución. Acto seguido, una centrifugación limpia el lisado celular de proteínas y restos, logrando que el ARN precipite selectivamente.
- **Eliminación del ADN contaminante de las células:** se suele incubar con la enzima DNasa I libre de RNAsas.
- **Elución del ARN:** el ARN total se disuelve en agua libre de RNAsas.

En el caso de tejidos, la extracción de ARN es algunas veces más difícil, ya que la RNasa endógena es activa mientras la muestra está siendo procesada. Dos tejidos, en particular, contienen una elevada actividad catalítica de RNAsa: el páncreas y el bazo; mientras que el hígado y el intestino presentan una menor actividad de dicha enzima. De cualquier modo, como se ha expuesto anteriormente, se recomienda usar tejidos tan frescos como sea posible, cortados en trozos pequeños (menos de un gramo cada uno), y congelarlos rápidamente en nitrógeno líquido hasta que se vaya a comenzar la extracción.

3.1.C. Células

El abanico de opciones, respecto del procesamiento o utilización de las células, es inmenso y depende, naturalmente, del estudio que se quiere realizar, así como del tipo celular de que se trate. Algunas de las posibilidades son:

- **Caracterización morfológica mediante distintos tipos de microscopía.**
- **Inmunofenotipaje:** citometría, inmunomarcaje.
- **Estudio de componentes celulares, caracterización molecular.**
- **Técnicas de análisis masivo** de proteínas (Proteómica) y ácidos nucleicos (Genómica), de su expresión (Transcriptómica) y de sus múltiples interacciones en la célula (Metabólica).

En los últimos años y particularmente desde la obtención de líneas de células troncales embrionarias humanas y del descubrimiento de la posible diferenciación de células troncales adultas de un determinado linaje a células maduras de otro linaje distinto, se han abierto interesantes posibilidades para la diferenciación específica y controlada *in vivo* e *in vitro* de células troncales, así como para su utilización como fuente de células funcionales para tejidos alterados o envejecidos. Además, en el plano de investigación más básica, las líneas derivadas de células troncales y ellas mismas constituyen un modelo particularmente importante para la determinación de los mecanismos que regulan la diferenciación celular.

Las células obtenidas de acuerdo con los métodos descritos en la sección 2 de este capítulo (apartado 2.1.B) se pueden utilizar en numerosas ocasiones directamente, tal y como se ha comentado en dicho apartado. Otras veces, sin embargo, el tipo de experimentación o la necesidad de un número de células elevado, etc., demanda el empleo de cultivos celulares.

C.1. Tipos de cultivos celulares

C.1.1. Cultivo primario

Las células obtenidas *ex vivo* y puestas en condiciones de cultivo constituyen un cultivo primario. Durante un cierto tiempo, las células mantenidas en cultivo pueden conservar muchas de las características fisiológicas que presentan *in vivo*. Otra forma de obtener cultivos primarios consiste en el cultivo de explantes o pequeños fragmentos de tejido puestos en cultivo de los que se van desprendiendo células individuales. El establecimiento de estos cultivos no siempre es fácil. Son inicialmente heterogéneos, pueden ser mantenidos *in vitro* por un tiempo limitado y, a largo plazo, el cultivo se llena de las células presentes en la muestra que mejor crecen en las condiciones del cultivo, generalmente los fibroblastos.

C.1.2. Cultivo continuo

Algunos tipos celulares se pueden mantener en cultivo y proliferar durante más tiempo, constituyendo un cultivo continuo o una línea celular. Estas líneas pueden tener, no obstante, una capacidad de proliferación limitada a un número de generaciones, o bien ser ilimitada.

Las células con una capacidad de proliferación limitada suelen haber alcanzado ya un cierto grado de diferenciación, al menos en las condiciones en las que se ha establecido el cultivo. Por el contrario, las células denominadas troncales poseen una alta capacidad proliferativa y un grado importante de indiferenciación, que es el caso de las células troncales embrionarias. Estas células en condiciones muy controladas de cultivo se mantienen como células troncales, mientras que si se modifican dichas condiciones las células se diferencian a múltiples linajes celulares.

Los cultivos con una capacidad de proliferación más larga o ilimitada se establecen con células que muestran una mayor capacidad de renovación, como las células tu-

morales o aquellas que son “inmortalizadas” mediante una transformación por un tratamiento químico o una infección viral.

Hay que considerar que, en general, las células cultivadas durante un gran número de pases, principalmente las de crecimiento “indefinido” o las líneas transformadas, son células que retienen pocas de sus características *in vivo*. Por otra parte, la propagación de una línea durante un gran número de pases conlleva normalmente cambios en las propiedades de las células que pueden asimismo incluir cambios genéticos.

C.2. Establecimiento de subcultivos de líneas celulares

Las células no pueden crecer en un medio de cultivo indefinidamente. Los nutrientes del medio se consumen, se acumulan productos tóxicos, las células pueden morir o alterarse y, en todo caso, llega un momento en el que la densidad celular inhibe el crecimiento. Es necesario, por lo tanto, renovar el cultivo a medida que alcanza una determinada densidad celular. El procedimiento varía según las células crezcan adheridas o en suspensión.

En general, las células adherentes crecen en monocapa hasta que se cubre la superficie disponible. Antes de que esto suceda es necesario subcultivar, para lo que las células han de desprenderse del sustrato, convirtiéndose temporalmente en células en suspensión. El procedimiento a seguir consiste en:

- 1) En primer lugar, se decanta el medio antes de que las células alcancen el 100% de confluencia.
- 2) Se lavan las células con PBS sin $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ y se les añade la suficiente tripsina/EDTA en HBSS sin $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ para cubrir las células sin exceso.
- 3) Las células se ponen entonces en el incubador durante 2-10 minutos.
- 4) Cuando bajo el microscopio invertido se observa que las células se redondean y comienzan a desprenderse, se añade medio con suero con el objetivo de inactivar la tripsina.
- 5) Se resuspenden las células y, mediante pipeteo, se lavan y cuentan, resuspendiéndolas finalmente en un medio fresco y a la densidad apropiada según el tipo celular; a continuación, se añaden a un nuevo *flask* con medio precalentado.

En este proceso es particularmente importante la digestión con tripsina, la cual se debe monitorizar cuidadosamente, porque un exceso de digestión de pipeteo puede matar muchas células. También ha de tenerse en cuenta que, al levantar las células adherentes con tripsina, muchas o algunas de sus proteínas de membrana se pueden eliminar. Por este motivo, cuando las células son finalmente levantadas para su análisis, en ocasiones conviene utilizar métodos alternativos como “raspadores” o “espátulas” a fin de evitar los efectos de la tripsina.

En el caso de células en suspensión, una vez alcanzada una alta densidad y antes de que el medio se acidifique en exceso, se deben centrifugar, contadas y resembradas a la densidad adecuada según el tipo celular en un medio fresco precalentado.

C.3. Medios y condiciones de cultivo

El aspecto crítico de los cultivos celulares es conseguir que las células en el cultivo mantengan el estado inicial de diferenciación o indiferenciación y sus propiedades fisiológicas. El medio y las condiciones de cultivo van a determinar no sólo la supervivencia de las células, sino también su capacidad de proliferación y, en gran medida, el mantenimiento de sus propiedades fisiológicas. En este sentido, aspectos que se deben evaluar cuidadosamente son: la temperatura y la atmósfera del incubador, el sustrato de adhesión en el caso de cultivos adherentes, el medio de cultivo y el pH.

El sustrato es crítico en los cultivos adherentes para que muchas de las células en cultivo mantengan sus propiedades fisiológicas e incluso su supervivencia y crecimiento. A este respecto, es necesario utilizar los materiales óptimos, plásticos tratados para cultivo, vidrio o sustratos recubiertos de materiales biológicos, como colágeno, gelatina, fibronectina, laminina, etc.

Por su parte, el medio de cultivo debe, por un lado, mantener el pH óptimo para el crecimiento celular y, por otro lado, aportar los nutrientes y factores que la célula necesita para su crecimiento y el mantenimiento del estado fisiológico.

Los medios generales contienen sales inorgánicas que proporcionan los iones necesarios para regular la ósmosis, el potencial de membrana y la adhesión a la matriz extracelular; asimismo, contienen carbohidratos, generalmente azúcares, que actúan como fuente de energía, y vitaminas; así como ácidos grasos y lípidos, normalmente presentes en el suero que se añade a muchos cultivos, aunque hay células que necesitan aportes especiales de colesterol y esteroides, sobre todo en los medios sin suero; también se encuentran proteínas y péptidos, normalmente aportados por el suero, y oligoelementos, como el zinc, el cobre, el selenio y el ácido tricarbóxico.

El suero se utiliza como aporte general de nutrientes, proteínas, ácidos grasos y también factores de crecimiento. El más comúnmente utilizado es el suero de ternera fetal, pero también se emplean habitualmente suero de caballo o suero de ternera neonata. Por su naturaleza, la composición del suero es difícil de precisar y varía de lote a lote, motivo por el cual es imprescindible testar los lotes y tener en cuenta que las condiciones de cultivo podrían variar con uno nuevo. En numerosas ocasiones es necesario un control más estricto de la composición del medio, por lo que cada vez existen más medios libres de suero y con componentes estándares.

Por otra parte, muchas células necesitan aporte de factores de crecimiento, interleucinas u otro tipo de señales, presentes en su microambiente *in vivo*, que ayudan a man-

tener *in vitro* el estado fisiológico de la célula. Determinar el tipo de “señales” que permiten el crecimiento o el estado fisiológico de las células *in vivo* y tratar de simularlo *in vitro* constituiría el fin último de un medio de cultivo.

Las células crecen a un pH óptimo que, en general, se encuentra entre 7,2 y 7,4. Este pH se puede mantener mediante el empleo de una atmósfera de 5-10% de CO₂ que se equilibra con el CO₃/HCO₃ presente en el medio, lo que resulta poco tóxico para las células además de económico. También se pueden utilizar medios tamponados generalmente con HEPES, lo que resulta más caro, si bien altas concentraciones de HEPES pueden ser tóxicas para algunas células. En general, los medios de cultivo suelen llevar un indicador de pH, normalmente el rojo fenol que vira de rojo a amarillo cuando se acidifica el medio, o a púrpura si se basifica, lo que permite una monitorización continua del pH del medio.

C.4. Trabajo en esterilidad

Uno de los aspectos clave para el trabajo de cultivo es la esterilidad. Los cultivos celulares son susceptibles de contaminarse con bacterias, levaduras, hongos, micoplasma y virus. Es necesario prevenir estas contaminaciones, así como realizar comprobaciones periódicas de la ausencia de estos contaminantes. Para ello, se debe trabajar siempre en cabina de flujo laminar y desinfectar la superficie de trabajo con etanol al 70%. Se pueden utilizar otros desinfectantes, como hipoclorito, fenoles y aldehídos, pero su uso rutinario se desaconseja. Se debe utilizar todo el material estéril, asegurándose de que aquel que haya sido envuelto no muestra roturas en el envoltorio. Además, se ha de aplicar etanol al 70% en los guantes periódicamente durante la manipulación, mantener despejada la superficie de trabajo y evitar pasar las manos por encima de los cultivos, las soluciones o los medios. Tampoco es aconsejable tocar con las pipetas las bocas de las botellas y frascos ni succionar con la boca para pipetear, debiendo utilizarse pipeteadores automáticos. Es importante, finalmente, flamear pinzas, material de vidrio, etc., antes de introducirlo en el cultivo, así como limpiar la cabina de flujo una vez que se ha terminado con etanol al 70%.

3.1.D. Fluidos

La muestra se obtiene en la mayoría de los casos mediante la centrifugación del espécimen, que puede ser de mayor o menor intensidad según el tipo de magnitud a analizar:

- A bajas revoluciones (150-200 gramos durante cinco minutos), por ejemplo, para obtener un plasma rico en plaquetas (PRP).
- A altas revoluciones (2.000-3.000 gramos durante 15-30 minutos), en el caso de la obtención de un plasma pobre en plaquetas (PPP).

A su vez, la centrifugación se puede llevar a cabo a baja temperatura (4-6 °C) para conseguir PPP en la mayoría de los casos o, por el contrario, sin refrigerar para obtener PRP. En este último caso, y teniendo en cuenta que el proceso de centrifuga-

ción incrementa la temperatura, es necesario asegurarse de que la temperatura de la centrífuga no supere en ningún momento los 25 °C, a fin de evitar el deterioro de las muestras a analizar. Nuevamente en la Tabla I se especifican las condiciones recomendables para cada magnitud. Es importante que cada laboratorio establezca su protocolo concreto respecto del material del que disponga y que lo siga rigurosamente.

Las muestras de líquidos biológicos se deben procesar antes de las dos horas, debido al deterioro inmediato de las células a contar y al cambio de sus características físico-químicas. Sólo las pruebas bioquímicas se pueden realizar con una demora de hasta 24 horas conservadas a 4 °C.

3.2. El respeto de los derechos del paciente relativos al uso de las muestras

Como se dijo en el sección 2 de este capítulo (apartado 2.2), además del consentimiento del sujeto para la obtención de la muestra es preciso obtener su consentimiento para la utilización de la misma. Si bien normalmente ambos consentimientos se realizarán en un solo acto y en un solo documento, se exponen a continuación los aspectos específicos relacionados con el uso.

Este consentimiento se podrá prestar junto con el que corresponde a la extracción cuando las muestras se obtengan, específicamente, para la investigación o como fin principal para el diagnóstico o la terapia pero, a la vez, se prevea la investigación con las mismas. Lógicamente, no es posible prestar a la vez ambos consentimientos cuando la muestra proviene de una colección almacenada sin haberse previsto este uso residual. El consentimiento para que las muestras se utilicen en investigación, en este caso, se prestará siempre con posterioridad a la extracción en otro documento.

Cuando se trate de muestras que puedan asociarse a un individuo, es decir, muestras identificadas o identificables, el sujeto debe consentir expresamente en virtud de los principios que regulan la protección de datos de carácter personal y que son aplicables a este supuesto. La utilización de muestras identificadas o identificables sin el consentimiento informado podría justificarse en algunos casos (ver capítulo V).

Con respecto a los criterios aplicables para muestras anónimas o anonimizadas, no existe todavía una normativa específica estatal. No obstante, el criterio que se sigue en la Recomendación del Consejo de Europa sobre utilización de muestras biológicas en investigación es que este material podrá utilizarse sin el consentimiento expreso en el caso de las muestras anónimas y en las muestras anonimizadas, salvo que conste la voluntad contraria del donante.

En el ámbito autonómico es muy significativa la previsión del artículo 36 de la Ley 8/2003, de 8 de abril, sobre derechos y deberes de las personas en relación con su salud, de la comunidad autónoma de Castilla y León, según el cual: “En el marco de la

normativa aplicable y siempre que no exista oposición por parte del interesado, los centros, servicios y establecimientos sometidos a la presente Ley podrán conservar y utilizar tejidos o muestras biológicas para fines lícitos distintos de aquellos que motivaron la biopsia o la extracción”.

Como regla general, el consentimiento es revocable y esta norma ha de aplicarse cuando se trata de un consentimiento para que se utilice una muestra biológica en investigación biomédica. Ya se trate de muestras o de datos, obviamente la revocación del consentimiento sólo se puede ejercer cuando se trate de muestras asociadas o asociables a un sujeto identificado.

Los efectos de la decisión cuando el sujeto fuente decide que su muestra no se siga utilizando para fines de investigación pueden ser, o bien la destrucción, o bien la anonimización, y lo mismo ocurre con los datos que se hubieran obtenido de su análisis. Esta cuestión se debería aclarar en la información previa al consentimiento y debería constar en el documento correspondiente. Se habría de informar, además, de que la cancelación o la anonimización de los datos significa que no se van a seguir utilizando en el futuro, pero no comporta que se vayan a destruir los que ya se han obtenido en el curso de la investigación. Estos datos han de mantenerse como parte de la documentación de dicha investigación.

Los efectos de la revocación dependerán de lo convenido en el documento de consentimiento, es decir, donde consta si en este supuesto la muestra se destruye o se anonimiza.

4. CONSERVACIÓN

4.1. Procedimientos técnicos para la conservación de las muestras

4.1.A. Tejidos y órganos

A.1. Sistemas y formatos de archivos

Los sistemas y formatos de archivo de muestras en el banco de tejidos u órganos son variados (tubos, bloques de OCT, secciones congeladas, frotis o improntas congeladas, bloques de parafina, matrices de tejido, o bien órganos enteros, como es el caso de los cerebros en los bancos de tejido neurológico). De forma ideal, sería conveniente disponer en todos los casos de muestras archivadas en diferentes formatos debido a que, habitualmente, a las ventajas de cada formato de archivo se asocian también algunas limitaciones o inconvenientes. Los lugares donde residen los sistemas de archivo han de disponer de un control físico de acceso, ya sea mediante cerradura o candado, ya sea mediante identificación por tarjeta magnética de las personas que entren en dichos lugares. A continuación, se describen estos sistemas y formatos de archivo, que se agrupan en sistemas de archivo a temperatura ambiente y sistemas de congelación.

A.1.1. Sistemas de archivo a temperatura ambiente

- Láminas con improntas y extensiones.
- Tejido incluido en parafina.

Este tipo de muestras se almacenan de forma que no queden expuestas a la luz, el polvo y los cambios de temperatura. Se debe procurar no contaminar por la manipulación sin guantes.

A.1.2. Sistemas de archivo a bajas temperaturas

Habitualmente, para la realización de diferentes tipos de estudios retrospectivos sobre material archivado relacionados con el análisis de proteínas, ARN u otros componentes celulares, se requiere que la muestra haya sido preservada a bajas temperaturas. Aunque en términos generales a menor temperatura hay una mayor garantía de calidad de la muestra, la selección de la temperatura a la que debe archivar se viene determinada por lo que se pretende estudiar *a posteriori* sobre ese espécimen en concreto.

En cualquier caso, en general, se recomienda el empleo de arcones de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (o temperaturas inferiores) y congeladores de nitrógeno líquido a temperaturas mucho más bajas. En este último caso, el mantenimiento de las células almacenadas en fase gaseosa evitaría, al máximo, la posibilidad de contaminación cruzada entre diferentes muestras. Probablemente, sean estos últimos sistemas de criopreservación los más recomendables dada su capacidad de conservación, si bien su precio y necesidades de mantenimiento los hacen menos asequibles.

No obstante, es imprescindible, sea cual sea el equipo empleado, que éste disponga de los adecuados sistemas de seguridad que garanticen la preservación de muestras: alarmas de temperatura y corriente eléctrica, generadores de emergencia, etc. Estas alarmas deben estar conectadas a una central que, en caso de problemas, avise a los encargados del banco de tejidos en el mismo momento en el que se produzcan. En los equipos con suministro de N_2 líquido, así como en los arcones, debe existir un sistema de apoyo (*back-up*) para suplir las posibles deficiencias en su funcionamiento, siendo también conveniente tener localizados otros contenedores con espacio libre dentro de la institución para casos de extrema emergencia. Resulta difícil hacer recomendaciones respecto del número total de congeladores necesarios, puesto que dependerá del ritmo de entrada de muestras que, hay que tenerlo presente, siempre será en principio superior al de salida, por lo que habrá que ir previendo con suficiente antelación la adquisición de nuevos equipos y/o la eliminación de muestras que se consideren innecesarias, y todo ello en función de las dimensiones finales y la capacidad de las instituciones de biotecnología.

Cualquiera que sea el equipo, las muestras deben estar bien organizadas dentro del mismo. Esto se consigue por medio de cajas dispuestas de forma ordenada en estantes (*racks*).

Es necesario seguir un programa de mantenimiento del equipo con revisiones periódicas, limpieza de la escarcha y eliminación de las muestras obsoletas.

A.2. Sistemas de congelación

Existen dos métodos principales habitualmente recomendables para la congelación de tejidos: congelación directa en isopentano y congelación en molde con medio OCT; cada una de ellas tiene ventajas y limitaciones.

A.2.1. Congelación directa en isopentano

El fragmento de tejido seleccionado se sumerge directamente en isopentano frío (histobath, isopentano extraído de arcón a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$). Cuando el tejido se ha endurecido y queda blanco, se introduce en tubos de almacenamiento entre 1 y 2 cc. La ventaja de esta técnica es su rapidez y que el contenedor empleado para el archivo de la muestra ocupa muy poco espacio a la vez que tiene una capacidad relativamente grande. Si fuera necesario un estudio microscópico, este material se puede cortar en el criomicrotomo, montando la muestra sobre OCT.

A.2.2. Congelación en molde de OCT

El fragmento seleccionado se coloca en un criomolde con OCT que se congela como en el caso anterior. Este método es algo más lento y para una misma cantidad de tejido ocupa más espacio al almacenarlo, pero es recomendable cuando se trata de muestras en cilindros que, por su tamaño y forma, pueden sufrir si no se congelan en el molde, o de aquellas en las que se necesite una orientación muy específica si se tienen que realizar cortes para un estudio microscópico. Además, permite almacenar de forma inmediata muestras de estudios intraoperatorios sin necesidad de volver a congelar el tejido.

A.3. Etiquetado e identificación de muestras

Tiene como objetivo asegurar de forma inequívoca la procedencia y las características específicas de cada una de ellas. Con ello se busca controlar al máximo los posibles errores o la ambigüedad en la identificación, o incluso evitar la necesidad de realizar procedimientos adicionales sobre la muestra para conocer algunas de sus características que han sido previamente exploradas (por ejemplo, tejido de procedencia, riqueza en células tumorales).

Aunque existen varios sistemas de etiquetado, el más recomendable emplea códigos de barras/puntos. Otras posibilidades incluyen escritura con tinta indeleble o contenedores (por ejemplo, tubos) que tienen grabados sistemas de barras/puntos. Cualquiera que sea el sistema empleado es recomendable que se cumplan los siguientes requisitos:

- Evitar el deterioro de la etiqueta y de la información contenida en ella con el tiempo y la temperatura extrema.
- Generar un número o cadena alfanumérica que sirva de identificador único de dicha muestra, sea cual sea la base de datos en la que ésta figure.
- Su lectura debe ser inequívoca y sin ambigüedades, y permitir la rápida identificación de la muestra.

- Se ha de colocar en un sitio visible y de fácil acceso en el contenedor de la muestra, e incluir sin problemas de espacio todo el código identificador.
- No debe contener datos confidenciales directa o fácilmente identificables. Por ejemplo, DNI, siglas del paciente o número de historia clínica.
- El sistema de etiquetado debe estar ligado a todos los datos técnicos de procesamiento en la base de datos del biobanco, como se refiere en la sección 6 del presente capítulo.

Según estas premisas, los sistemas de etiquetado con códigos de barras/puntos son en principio recomendables, ya que además garantizan una gran rapidez en el etiquetado, una identificación rápida e inequívoca de la muestra y se pueden utilizar para la elaboración de códigos que contengan un importante volumen de información en un espacio pequeño. De cualquier manera, es importante seleccionar un tipo de pegatina que no corra el riesgo de despegarse y/o borrarse total o parcialmente, en especial cuando se utiliza un archivo de muestras en N₂ a temperaturas muy bajas.

A.4. Equipos de almacenamiento

Los equipos de almacenamiento a bajas temperaturas son de dos tipos, teniendo en cuenta la temperatura a la que deben almacenar las muestras:

1) -80 °C: se trata de congeladores, habitualmente verticales, con capacidad de 450-650 litros, en cuyo interior las muestras se disponen en cajones y *racks*. Están conectados a la red eléctrica y conviene que tengan un sistema de seguridad de suministro eléctrico. Para asegurar la cadena de frío, incluso si hay pérdida de suministro eléctrico, se suelen instalar sistemas de aporte de CO₂ que pueden suplir una interrupción de la tensión eléctrica de hasta dos días.

2) -196 °C: son contenedores con nitrógeno líquido. Habitualmente, las muestras se almacenan en la fase de vapor, aunque en algunas ocasiones puede convenir el uso de la fase líquida. Hay dos tipos de contenedores según el nitrógeno en fase líquida pueda o no estar en contacto con las muestras. En los sistemas tradicionales es posible el contacto entre el nitrógeno líquido y las muestras (y, en consecuencia, con el operador). En otros sistemas, por el contrario, la fase líquida está custodiada por una cámara hueca, y, por lo tanto, no puede estar en contacto directo ni con las muestras ni con el operador.

4.1.B. ADN y ARN

B.1. Condiciones para la conservación

Las muestras de ADN se deben conservar congeladas por debajo de 20 °C. Teóricamente, la mejor opción es a -80 °C, pero existen laboratorios que prefieren conservarlas a -20 °C y que manifiestan que nunca han tenido problemas de degradación. Los congeladores deberán estar ubicados en lugares con las mismas condiciones de seguridad física y con las restricciones de acceso mencionadas en el apartado A.1 (apartado 4.1.A del capítulo II).

En el caso del ARN, el almacenamiento es un paso crítico para la integridad del ARN extraído, puesto que pequeñas cantidades de RNAsas pueden deteriorar el ARN guardado si no se mantiene a temperaturas de refrigeración extremas de -70 a -80 °C que inhiban la actividad enzimática. Independientemente de la técnica usada, en buenas condiciones las muestras de ARN se pueden conservar más de un año congeladas en agua que contenga un inhibidor de RNAsas, como el isotiocianato de guanidina, entre otros. Si el destino es la realización de RT-PCR, una buena alternativa es congelar la muestra después de su retrotranscripción a ADNc, molécula que es mucho más estable que el ARN.

B.2. Sistemas y formatos de archivos. Equipos de almacenamiento

Todas las muestras de ADN y ARN se conservan en tubos estériles bien cerrados para evitar la contaminación. Una buena opción es situarlos en cajas de 100 tubos numerados, que se apilan de diez en diez en *racks* o columnas dentro de grandes congeladores verticales a -80 °C. También se emplean en numerosas ocasiones los arcones.

B.3. Etiquetado e identificación de muestras

El etiquetado y la identificación de muestras de ARN y ADN han de seguir las mismas normas que las señaladas en el apartado anterior de tejidos y órganos 4.1.A (apartado A.3).

4.1.C. Células

Como ya se ha señalado, las células no pueden mantenerse en cultivo indefinidamente por múltiples razones: esto genera problemas de espacio, muchas células no permiten el cultivo prolongado y las que lo permiten son susceptibles de sufrir cambios irreversibles en su biología. Además, los cultivos prolongados incrementan el riesgo de contaminación microbiológica o de otro tipo.

Por esta razón, la forma de mantener las células asegurando que se mantengan en su estado inicial es criopreservarlas, es decir, proceder a su ultracongelación en condiciones que permitan su posterior recuperación. En general, se consigue mediante una congelación lenta y una descongelación rápida.

C.1. Congelación

Para realizar la congelación, el cultivo debe estar en fase exponencial de crecimiento, libre de contaminantes y saludable, según los criterios morfológicos y/o fisiológicos que correspondan. Para células adherentes esto suele corresponder a una situación previa a la confluencia.

La congelación de las células en suspensión se puede realizar directamente, pero las células adherentes deben ser previamente “levantadas” con tripsina/EDTA. A continuación, hay que bloquear la acción de la tripsina con suero y lavar las células. Una vez la-

vadas y contadas, la viabilidad de las células a congelar debe ser superior al 90%. Acto seguido, las células se centrifugan y resuspenden en un crioprotector adecuado, como puede ser el DMSO al 10% con un 90% de suero fetal bovino. Cada criotubo, convenientemente etiquetado, no debe contener una concentración superior a $2-4 \times 10^6$ células/mL, y no se debe llenar del todo. Los criotubos se depositan en contenedores tipo Nalgene Mr. Frosty rellenos de isopropanol a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ normalmente hasta el día siguiente. Las células ya congeladas se deben almacenar en contenedores de nitrógeno líquido o gaseoso.

C.2. Descongelación

La descongelación debe ser rápida; por ejemplo, el criotubo se puede calentar en un baño a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta que esté parcial pero no completamente descongelado. A continuación, las células se han de pipetear despacio sobre el medio de cultivo apropiado y colocarlas ya, sin más, en el incubador. En algunos casos, es necesario eliminar los restos de DMSO, porque puede resultar tóxico para ciertas células. En este caso, antes de poner las células en el incubador, hay que centrifugarlas y resuspenderlas nuevamente en el medio.

C.3. Organización y mantenimiento de un banco de células congeladas

Si se pretende organizar un banco de células congeladas, es conveniente distinguir alícuotas de células *ex vivo* y células de cultivo. La congelación de células *ex vivo* debe seguir los mismos criterios de viabilidad que las células de cultivo. En el caso de las células de cultivo, es conveniente que éstas se almacenen cuando lleven pocos pases de cultivo, lo que asegura que mantengan su estado inicial.

En caso de necesitar cantidades importantes de una línea o trabajar con ella de forma continua durante un tiempo, es recomendable generar un pequeño *stock* de alícuotas de trabajo a partir de una alícuota del *stock* original, congelando nuevas alícuotas en los primeros pases de cultivo, que se irán descongelando y reponiendo a lo largo del trabajo por el mismo procedimiento antes indicado, de forma que se asegure que las células utilizadas son lo más parecidas posible a las originales. Si es posible y las células tras cultivo mantienen sus características originales, se podría reponer el *stock* original de estos primeros pases.

Algunas cuestiones de las tratadas en los apartados 4.1.A y 4.1.B del presente capítulo son aplicables a este epígrafe, como son el etiquetado y la identificación de muestras y los equipos de almacenamiento.

4.1.D. Fluidos

Las muestras pueden conservarse de diferentes maneras, lo que supone también diferentes condiciones de estabilidad y tiempos máximos permitidos diferentes para cada una de ellas. Las especificaciones que se deberían considerar óptimas quedan reflejadas en la Tabla I.

Más allá de cuatro horas después de la recolección, las muestras de plasma se pueden almacenar en el congelador a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta cuatro semanas y, si se congelan rápidamente a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta seis meses.

Las muestras congeladas con anterioridad a realizar la medición, deberían ser descongeladas de forma rápida a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su total licuación. Las muestras descongeladas deben mezclarse, suavemente, por inversión del tubo antes de realizar la medición.

La homogeneización inadecuada de las muestras congeladas después de la descongelación es una fuente de error muy común. Durante la descongelación se producen gradientes de concentración que van desplazándose desde las soluciones concentradas que primero funden hacia las capas inferiores por las paredes del recipiente. Por consiguiente, después de la descongelación la muestra deberá invertirse varias veces, evitando la formación de espuma, con especial atención a los materiales no disueltos, que serán disueltos por calentamiento suave si fuera necesario.

Como ya se ha expresado anteriormente, las muestras de líquidos biológicos se deben procesar antes de las dos horas. Las muestras destinadas a bioquímica se pueden centrifugar y separar de las células, en cuyo caso se pueden guardar durante 24 horas a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Algunas cuestiones de las tratadas en los apartados 4.1.A y 4.1.B del presente capítulo son aplicables a este epígrafe, como son el etiquetado y la identificación de muestras y los equipos de almacenamiento.

4.2. El respeto de los derechos de los pacientes durante la conservación de las muestras

4.2.A. Diferenciación entre muestras según su relación con un sujeto identificado o identificable

Dado que la muestra biológica es un soporte de toda la información genética del sujeto fuente, es necesario aplicar a su tratamiento los principios que corresponden según el derecho a la protección de datos de carácter personal.

A.1. Investigación con muestras anónimas o con muestras irreversiblemente disociadas

Es fundamental distinguir, por una parte, si se va a trabajar con datos anónimos o anonimizados y, por otra, si son atribuibles a personas. Son datos anónimos los que no se pueden asociar a una persona determinada, y son datos anonimizados los que, siendo de carácter personal, pasan a desvincularse absolutamente de un sujeto, o bien cuando obtener dicha asociación exija un esfuerzo no razonable, entendiéndose por tal el empleo de una cantidad de tiempo, gastos y trabajo desproporcionados. Estas categorías no están sujetas al régimen de protección de datos de carácter personal.

A.2. Investigación con muestras reversiblemente disociadas

Los principios de protección de los datos de carácter personal se aplican a “cualquier información concerniente a personas físicas identificadas o identificables” –artículo 3 de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal (LOPD)–. Una persona es identificable cuando existe cualquier elemento que permite determinar directa o indirectamente su identidad física, fisiológica, psíquica, económica, cultural o social (artículo 1.5 del Real Decreto 1332/1994, de 20 de junio).

Así pues, cuando un dato se desvincula de la identidad del sujeto a través de un código y esta operación se puede realizar de manera inversa o, lo que es lo mismo, cuando subsiste la posibilidad de relacionar de nuevo el dato con la identidad sin que esta operación precise un esfuerzo no razonable en los términos antes aludidos, el dato es de carácter personal.

Las muestras reversiblemente disociadas (aquellas que no están directamente asociadas a un sujeto, sino que se identifican, por ejemplo, a través de un código) contienen datos de carácter personal, siempre que exista la posibilidad razonable de que, a través de este código, se pueda restablecer la identidad del sujeto fuente. Se debe llamar la atención sobre qué no es relevante a efectos de considerar un dato como reversiblemente disociado y, por lo tanto, sometido al régimen de datos de carácter personal, y quién es la persona capaz de llevar a cabo este proceso de reversión; es decir, aunque los datos no sean asociables a un sujeto por parte del investigador que los maneja, la posibilidad de que otra persona los consiga obliga a incluirlos en dicho régimen.

Se trata, por consiguiente, de dilucidar la cantidad de esfuerzo que se precisaría para restablecer las identidades a efectos de determinar si es o no “desproporcionado” y aplicar o no, en consecuencia, los principios de protección de datos.

Se ha de tener en cuenta que, según la legislación, un dato debe someterse al régimen de protección de datos de carácter personal cuando sea atribuible a un sujeto por parte de cualquiera, ya sea quien lo ha recabado (por ejemplo, el clínico), quien lo está utilizando (por ejemplo, el investigador) u otra persona.

4.2.B. Confidencialidad

El objetivo del tratamiento de muestras biológicas para investigación es llevar a cabo un análisis y obtener datos biomédicos de interés científico. Además, el uso de la muestra en sí genera una información de carácter personal: el hecho de que la muestra se ha obtenido, de que está almacenada, etc. Tanto sobre los datos que se obtengan del análisis como sobre todas las cuestiones relativas al uso o el procesamiento de la muestra, el sujeto fuente tiene un derecho al secreto que se plasma en una obligación de confidencialidad que obliga a cualquier persona que tenga acceso legítimo a la información.

La obligación de confidencialidad sobre la información del sujeto fuente está reconocida en normas generales, por ejemplo, en el artículo 10 de la LOPD, el artículo 10 de

la Ley General de Sanidad y el artículo 7.1 de la Ley 41/2002. Además, existen normas sectoriales relativas, por una parte, a la investigación y, por otra parte, a la donación de material biológico humano, que prevén particularmente esta obligación de confidencialidad.

Se debe añadir que la ruptura del deber de secreto puede representar incluso un delito, según los términos del artículo 199 del Código Penal.

De este modo, la regla general que debe guiar al profesional es el deber de secreto. En consecuencia, únicamente el sujeto fuente tiene derecho a que se le comuniquen los datos que se obtengan del análisis de las muestras.

Cuando esta información pueda tener interés para los familiares del sujeto, debe advertírsele sobre esta eventualidad en el momento de solicitar su consentimiento. Cuando se obtenga un dato que, a juicio del profesional, deba ser conocido por los familiares del paciente, es éste quien tiene el deber de comunicárselo.

Si el paciente se niega, sólo en situaciones muy excepcionales quedaría justificada la ruptura del deber de secreto por parte del profesional. Se trataría de supuestos en los que la omisión de la información podría causar un grave y evidente perjuicio al familiar.

4.2.C. Derecho a no saber

El reconocimiento del derecho a no saber surge para hacer frente a situaciones donde pueden producirse descubrimientos inesperados. Esta hipótesis es más frecuente en la investigación biomédica que en otras situaciones de diagnóstico clínico, en las que se parte de una sospecha acerca de una determinada enfermedad del paciente con carácter previo al análisis.

Este derecho cobra una especial trascendencia en la utilización de muestras biológicas para investigación y aparece reconocido en el Convenio de Derechos Humanos y Biomedicina del Consejo de Europa, según el cual: “Toda persona tendrá derecho a conocer toda la información obtenida respecto de su salud. No obstante, deberá respetarse la voluntad de una persona de no ser informada” (artículo 10.2); y en la Declaración Internacional de la UNESCO sobre Datos Genéticos Humanos: “Cuando se recolecten datos genéticos humanos, datos proteómicos humanos o muestras biológicas con fines de investigación médica y científica, en la información suministrada en el momento del consentimiento debería indicarse que la persona en cuestión tiene derecho a decidir ser o no informada de los resultados de la investigación. Esta disposición no se aplicará a investigaciones sobre datos irreversiblemente disociados de personas identificables ni a datos que no permitan sacar conclusiones particulares sobre las personas que hayan participado en tales investigaciones. En su caso, los familiares identificados que pudieran verse afectados por los resultados deberían gozar también del derecho a no ser informados” (artículo 10).

Por lo que se refiere a la legislación interna, el artículo 4.1 de la Ley 41/2002 señala: “Los pacientes tienen derecho a conocer, con motivo de cualquier actuación en el ámbito de su

salud, toda la información disponible sobre la misma, salvando los supuestos exceptuados por la Ley. Además, toda persona tiene derecho a que se respete su voluntad de no ser informada”; y en el artículo 9.1 se añade: “La renuncia del paciente a recibir información está limitada por el interés de la salud del propio paciente, de terceros, de la colectividad y por las exigencias terapéuticas del caso. Cuando el paciente manifieste expresamente su deseo de no ser informado, se respetará su voluntad haciendo constar su renuncia documentalmente, sin perjuicio de la obtención de su consentimiento previo para la intervención”.

Por consiguiente, cuando se solicite el consentimiento para participar en una investigación que implique el análisis de muestras biológicas se deberá preguntar previamente al interesado sobre su deseo de ser informado o no de los hallazgos sobre su salud, así como de las repercusiones sobre sus familiares, teniendo en cuenta que si la omisión de la información comporta un grave riesgo para la salud de aquél o la de éstos este derecho debe ceder.

Si el sujeto no manifestó su voluntad sobre esta cuestión, se deben considerar ciertos criterios coherentes con lo que se acaba de exponer, esto es, la gravedad de los riesgos que pudiera comportar la omisión de información para la salud del interesado o de sus familiares, y la existencia de medidas terapéuticas o preventivas. No hay obligación de comunicar cualquier otra información que no hubiese sido requerida previamente.

4.2.D. Derechos de acceso y rectificación

La garantía del ejercicio del derecho de acceso es fundamental cuando se admite la posibilidad de consentimiento para investigación científica de manera genérica y de consentimiento para cualquier cesión con estos fines. Gracias a la posibilidad que tiene el sujeto de conocer las circunstancias del uso y almacenamiento de la muestra y de conocer cualquier dato que se obtenga a partir de la misma, se asegura que conserva el control sobre su información personal.

El artículo 13 de la LOPD recoge el derecho de acceso del sujeto a sus datos almacenados y el artículo 18 de la Ley 41/2002 lo regula, en concreto, para la información contenida en la historia clínica.

El derecho de acceso se ejercita en relación con los datos obtenidos y a través de un documento que ofrezca un reflejo objetivo de la realidad, pero no necesariamente con la entrega de la muestra biológica.

Por otra parte, tras el acceso, el sujeto tiene derecho a que se rectifiquen sus datos de carácter personal que resulten inexactos. No deben entenderse como inexactos los datos que se están evaluando en el proceso de investigación científica.

4.2.E. Periodo de conservación

El periodo de conservación de la muestra y de los datos de carácter personal relacionados con ésta queda determinado por el cumplimiento de la finalidad que justificó su recogida.

La información previa al consentimiento del sujeto para que se utilicen sus muestras debería incluir la previsión sobre el periodo de almacenamiento. Sin embargo, es frecuente que no exista una fecha determinada, sobre todo en los casos en los que el destino de la muestra es un biobanco.

Teniendo en cuenta la finalidad de los biobancos, sería oportuno que jurídicamente se pudieran establecer periodos de conservación muy dilatados, y más allá de las finalidades concretas que justificaron la recogida, para que las muestras recopiladas a veces durante muchos años pudieran ser de utilidad. Con carácter prospectivo debería ser posible que, al informar al sujeto de los objetivos del biobanco, éste accediera a la conservación de la muestra por periodos muy dilatados y a su posible utilización en diferentes proyectos de investigación, manteniendo siempre la opción de acceso en cualquier momento a los datos que se obtengan y de revocación del consentimiento.

5. CIRCULACIÓN

5.1. Aspectos técnicos del transporte de muestras biológicas

Todos los que reciban o envíen muestras deben garantizar, como elementos básicos, las tres premisas siguientes:

- Identificación y garantía de trazabilidad de las muestras y solicitudes.
- Formación adecuada del personal que debe manipular y transportar las muestras para garantizar sus características originales.
- Definición de las condiciones de preparación, manipulación y transporte que requiere cada tipo de muestra.

5.1.A. Legislación aplicable

En Europa, la mayoría de los países utilizan las normas ADR (*Accord Dangereux Routier*) para el transporte por carretera de mercancías peligrosas. Para el transporte aéreo, las normas correspondientes y de obligado cumplimiento son las Instrucciones Técnicas de la ICAO (*International Civil Aviation Organization*), aunque se tiende a utilizar las Normas de Mercancías Peligrosas de la Asociación de Transporte Aéreo Internacional (IATA).

La IATA publica estas normas bianualmente (este capítulo se ha basado en la publicada el 1 de enero de 2005; la siguiente actualización, se publicará en enero de 2007). Pueden, además, encontrarse normas locales propias de cada país, cuya existencia se deberá comprobar antes de realizar los envíos.

Destaca la siguiente normativa:

1) Postal:

- *The Universal Postal Union (UPU). Manual of the Universal Postal Convention 1995.* Regulación detallada para el transporte de sustancias biológicas por correo.

2) Carretera:

- Acuerdo europeo sobre transporte internacional de mercancías peligrosas por carretera (ADR 2003).
- Real Decreto 2115/1998, de 2 de octubre, sobre transporte de mercancías peligrosas por carretera.
- BOE 7/2/2003, enmiendas propuestas por Portugal a los anexos A y B del Acuerdo europeo sobre transporte internacional de mercancías peligrosas por carretera.

3) Tren:

- Reglamento de Transporte Internacional por Ferrocarril de Mercancías Peligrosas (RID), publicado en el *Boletín Oficial del Estado* del 20 al 26 de agosto de 1986.
- Contrato de transporte internacional por ferrocarril de las mercancías (CIM o COTIF) (Berna, 9 de mayo de 1980), publicado en el *Boletín Oficial del Estado* de 18 de enero de 1986.
- Real Decreto 412/2001, de 20 de abril, por el que se regulan diversos aspectos relacionados con el transporte de mercancías peligrosas por ferrocarril.
- BOE 18-2-2003, enmiendas al Reglamento de Transporte Internacional de Mercancías Peligrosas por Ferrocarril (RID), anejo al Convenio relativo a los Transportes Internacionales por Ferrocarril (COTIF), adoptadas por la Comisión de Expertos del RID, en Praga el 23 de noviembre de 2001.

4) Avión:

- Instrucciones técnicas para la seguridad en el transporte aéreo de mercancías peligrosas de la Organización Internacional de Aviación Civil (ICAO). Asociación Internacional de Transporte Aéreo: IATA-DGR, Montreal, 2005.

5) Mar:

- Código Internacional de Transporte Marítimo de Mercancías Peligrosas (IMDG). *International Maritime Organization* (IMO), Londres, 1995.

La mayor parte de las muestras biológicas se transportan en avión por compañías de mensajería, excepto en los viajes muy cortos. Es preciso recordar, no obstante, que cada muestra suele transportarse por carretera al final del viaje aéreo, de modo que cada envío tendrá que cumplir las normas locales de transporte por carretera, que deberán comprobarse para cada envío. Las compañías de mensajería conocen dichas normas y podrán asesorar en cada caso.

Los EE.UU. poseen un conjunto de normas completamente distintas del resto del mundo. Sus normas son las 49 CFR, que significa Código de Normas Federales. Las 49 CFR cubren el transporte aéreo y aquel por carretera o autopista, aunque en la mayoría de los casos las normas 49 CFR son las mismas que las de la IATA. Este aspecto se debe tener en consideración si se desean enviar muestras a los EE.UU.

Es importante que las compañías de mensajería utilizadas establezcan buenas relaciones de trabajo con los centros y que su personal comprenda estas normas y las cumpla.

5.1.B. Envío de muestras

Se han de acordar con las mensajerías especializadas los tiempos y la forma de solicitud de los envíos con anticipación a la puesta en marcha del proyecto del que se trate, teniendo en cuenta que hay muestras que se deben enviar en el momento inmediatamente posterior a su extracción.

La mayoría de las compañías de mensajería solicitan un formulario o cualquier otro tipo de notificación formal, por escrito, que confirme los detalles del envío, cómo, cuándo y dónde deben recoger el envío, y dónde debe ser entregado.

Existen varios procedimientos que se deben seguir antes de que una muestra biológica esté preparada para su despacho. En primer lugar, es necesario identificar con exactitud qué es lo que se va a enviar.

Para el envío de las muestras es preciso tener en cuenta uno de los componentes esenciales del mismo, como es el acondicionamiento de la muestra; por ejemplo, el hielo seco se utiliza para mantener las muestras congeladas.

5.1.C. Identificación

Hay una gran variedad de mercancías peligrosas que se envían rutinariamente por todo el mundo, por lo que es preciso un código de reconocimiento en función de varios parámetros:

1) Clases según el tipo de peligro: las Naciones Unidas desarrollaron un sistema de división de todos estos productos en nueve clases según el tipo de peligro. Así, las muestras biológicas, si se estiman infecciosas, están comprendidas en la clase 6.2, que cubre todos los tipos de sustancias infecciosas. Existe otra clase relacionada con el envío de muestras, se trata de la clase 9 (“mercancías peligrosas diversas”). El hielo seco o dióxido de carbono sólido está clasificado como sustancia de clase 9.

2) Número UN: también deben clasificarse con un número UN, que es un número único de cuatro dígitos mundialmente reconocido. Por ejemplo, UN2814 representa “sustancia infecciosa que afecta a los humanos”, y es comprendido en cualquier parte (por ejemplo, el virus Ebola). Otro número que hay que reconocer es el UN3373, que cubre muestras de diagnóstico; es un nuevo número UN que se introdujo en 2003 y es el más utilizado en la investigación clínica.

3) Nombre correcto del envío: necesario para todas las mercancías peligrosas, es el texto oficial que se encuentra en las normas de mercancías peligrosas de la IATA junto con el número UN. Por lo tanto, para una muestra biológica infecciosa, la designación completa es “UN2814, sustancia infecciosa que afecta a los humanos”.

En las normas de mercancías peligrosas aparece un asterisco al final del nombre correcto del envío. Esto significa que tiene que incluir un nombre técnico adicional en el nombre correcto del envío. Este nombre puede ser un virus, bacteria o cualquier otro

término apropiado. El nombre correcto del envío completo es, por ejemplo, “UN2814 sustancia infecciosa que afecta a los humanos (virus Ebola)”.

5.1.D. Clasificación de las muestras para el envío

¿Cómo se sabe qué muestras biológicas se deben tratar como infecciosas y cuáles como muestras de diagnóstico? Esta distinción es muy importante porque los requisitos de etiquetado y documentación varían en función de la clasificación. Esta decisión afecta también a los costes de transporte y envío –generalmente, el envío de las muestras infecciosas es más caro que el de las muestras de diagnóstico, porque las precauciones que se han de tomar son mayores–; como también afecta a los cargos de flete y de manipulación.

Los ensayos clínicos y los estudios suelen contener muestras de diagnóstico o muestras infecciosas, y esta información se debe encontrar recogida y detallada en el protocolo, normalmente como apéndice, abarcando la recogida, la manipulación y el envío de las muestras. Esto se aplica al protocolo de estudio clínico, a la farmacocinética, la farmacodinámica, la genética, los tejidos y las muestras de seguridad.

La OMS desarrolló criterios concretos para clasificar muestras biológicas. Cada muestra se asignaba a un grupo de riesgo atendiendo a su posibilidad de infección dentro de la especie humana. Desde el 1 de enero de 2005, todas las muestras biológicas se clasifican como muestras infecciosas y deben ser asignadas a una de estas dos categorías:

- **Categoría A:** aquellas sustancias infecciosas que se transportan de forma que, cuando ocurra una exposición accidental, pueden causar incapacidad permanente, amenazan la vida u originan enfermedad fatal a humanos o animales. Existe una lista de sustancias que cumplen estos criterios dentro de la normativa de la OMS. Las sustancias infecciosas de este grupo se corresponden con el código UN2814, y el nombre correcto de este envío será “sustancia infecciosa que afecta a humanos”. Por ejemplo, hepatitis B (cultivos), VIH (cultivos), virus Ebola o virus Lassa.
- **Categoría B:** cualquier sustancia infecciosa que no cumpla los criterios para ser incluida en la categoría A. Las sustancias infecciosas de este grupo se corresponden con el código UN3373, y el nombre correcto de envío será “especimen clínico o espécimen de diagnóstico”. Por ejemplo, hepatitis B, VIH, CMV.

En el protocolo debe incluirse una frase similar a esta: “Las muestras de este estudio están clasificadas como sustancia biológica, categoría B. Para su envío, las muestras deberán ser empaquetadas y enviadas con el código UN3373, espécimen clínico o de diagnóstico”.

5.1.E. Empaquetado

El almacenamiento y el empaquetado correctos son de la máxima importancia para asegurar que las muestras mantengan su integridad y su valor para los trabajos de in-

investigación y desarrollo. Las cajas para el transporte de muestras biológicas tienen que cumplir determinadas normas. Han de ser resistentes a los golpes en caso de caída desde una cierta altura y también poseer otras características para asegurarse de que las muestras no se dañan ni se producen fugas en ellas durante el transporte. Deben soportar, además, cambios bruscos de temperatura y presión. Las que se usan de una forma más general se suministran habitualmente por los proveedores y empresas de transporte acreditadas. Deben cumplir también las normas de las Naciones Unidas.

Las cajas autorizadas tienen una marca UN impresa en ellas, y no es aceptable que esta marca vaya escrita en la caja. Si las cajas no tienen la citada marca, no se deberá hacer uso de ellas para los envíos de muestras infecciosas. La marca UN está constituida por varias partes:

- El logotipo UN.
- El código del tipo de paquete.
- La clase de mercancías para la que puede usarse.
- La fecha de fabricación más el código de la autoridad que realiza la prueba.
- El nombre o el logotipo del fabricante.

Las normas de empaquetado que se han descrito corresponden a las instrucciones del embalaje 602 y 650 de las Normas de Mercancías Peligrosas de la IATA.

Las cajas tienen distinto tamaño según la muestra que se quiere enviar. Existen, como mínimo, tres niveles de empaquetado: un recipiente primario, uno secundario y un paquete exterior. Todos los paquetes interiores deben poseer material absorbente para recoger la muestra en caso de fuga o accidente durante el transporte. También debe actuar como material protector. El material protector puede ser gomaespuma, algodón o plástico de burbujas. El material absorbente podría ser también algodón u hojas absorbentes especiales. También llevan una tapa aislante que se coloca encima de las muestras.

Muchas veces se utiliza un nivel adicional cuando se coloca una caja dentro de otra con la finalidad de dejar espacio para el hielo seco.

Se examinará ahora un ejemplo de cómo empaquetar una muestra biológica:

- Colocar en una gradilla los tubos individuales que contienen las muestras.
- Distribuir uniformemente las muestras en la gradilla.
- Colocar la tapa y el material absorbente alrededor y fijarla con una goma elástica.
- Poner la gradilla y su protección en una bolsa de plástico –una bolsa por gradilla–.
- Sacar el exceso de aire.
- Cerrar la bolsa. La bolsa cerrada se puede introducir ahora en la caja exterior.
- Puede haber soportes alrededor de la gradilla que proporcionan espacio para el hielo seco.
- Disponer una hoja de relleno (protectora/absorbente) en la parte superior.
- Introducir todos los documentos del envío en la parte superior de la caja.
- Cerrar y sellar la tapa de la caja interior y exterior en la secuencia correcta.

A la hora de preparar el paquete se debe tener en cuenta que el hielo seco es un refrigerante de uso muy generalizado, pero también es una sustancia peligrosa que agota el oxígeno del aire y que puede causar mareo y otros síntomas. También es muy frío y quema cuando entra en contacto con la piel. Se deben llevar siempre guantes térmicamente aislados cuando se maneje hielo seco.

El hielo seco se ha de distribuir uniformemente alrededor de la caja. La cantidad de hielo seco necesaria depende del volumen del envío, de la duración del viaje puerta a puerta, incluida la previsión de cualquier retraso, y las condiciones de temperatura que es probable que se encuentren en ruta.

Por lo general, las compañías de mensajería pueden informar sobre la cantidad de hielo seco que hace falta cuando se requiere para el envío.

En otro ejemplo, para una muestra de tejido/biopsia, al igual que con todos los otros paquetes, existen tres niveles: primario, secundario y exterior. En este caso, los pasos específicos serán los siguientes:

- Colocar la tapa o tapas deslizantes en la caja de plástico que contiene la muestra.
- Cerrar la tapa deslizante y ponerla en el contenedor exterior, añadiendo material protector alrededor de los costados para mantenerla en su lugar.
- Introducir la gomaespuma de protección en la parte superior antes de cerrar la caja.
- Cerrar bien el contenedor.
- Disponer el contenedor en la caja UN y añadir los documentos del envío.
- Sellar la caja para poder colocarla en una caja mayor aislante con hielo seco.
- Añadir el hielo seco y distribuirlo uniformemente alrededor.
- Colocar la tapa de aislamiento y cerrar la caja.

5.1.F. Etiquetado

Los requisitos de marca y etiquetado para muestras biológicas son distintos según se trate de muestras de diagnóstico o de sustancias infecciosas. En muchos envíos, es el representante de la compañía de mensajería quien completa todas las marcas y el etiquetado. En otras circunstancias es responsabilidad del remitente hacerlo. Es importante que esto se haga correctamente porque, si se produce algún error, la muestra quedará detenida en alguna etapa de su transporte y esto retrasará el envío, poniendo en peligro la integridad de la muestra.

¿Qué información debe ir en una caja que contenga una muestra de diagnóstico empaquetada con hielo seco? En primer lugar, el/los nombre/s completo/s y dirección del remitente y del destinatario.

Se incluirá un rombo con el código “UN3373”, junto con el nombre: “muestra para diagnóstico o muestra clínica” (*Diagnostic specimen/Clinical specimen*). Esta información puede estar preimpresa en la caja. Se debe pegar además, o asegurarse de que lo hace la compañía de mensajería, una etiqueta de mercancías peligrosas diversas “clase 9” para tener en cuenta el hielo seco, que se considera una sustancia peligrosa.

En la caja debe aparecer el nombre del envío correcto (hielo seco o dióxido de carbono, sólido) y “UN1845”. Asimismo, la persona que realiza el envío o la compañía de mensajería tiene que escribir en la caja o en la etiqueta de clase 9 el peso neto del hielo seco: “UN1845, hielo seco 10 kilos” y “muestras de diagnóstico empaquetadas conforme a las instrucciones de empaquetado 650 de la IATA”.

¿Qué ocurre si se trata de una muestra infecciosa con hielo seco? Para las muestras infecciosas, además del nombre completo y la dirección del remitente y del destinatario, se debe incluir el nombre y el número de teléfono de una persona responsable; ésta puede encontrarse en cualquier lugar (es preferible que se encuentre en el lugar de destino o dentro de la misma franja horaria, ya que se pondrán en contacto con él/ella en caso de que surja algún problema con el envío).

Asimismo, deberá figurar el número “UN2814” y el nombre correcto del envío “sustancia infecciosa que afecta a los humanos”, junto con el nombre técnico entre paréntesis.

Se ha de añadir la cantidad neta total de la sustancia infecciosa (por ejemplo, 10 mL). Se debe señalar, asimismo, el código “UN1845, para cubrir el hielo seco/dióxido de carbono sólido (hielo seco 10 kilos)”. A la caja hay que fijar dos etiquetas: la etiqueta de sustancia infecciosa “clase 6.2” y la etiqueta de mercancías peligrosas diversas de clase 9, junto con la cantidad neta de hielo seco. Es frecuente también que vayan preimpresas en la caja dos etiquetas de orientación, pero si no es así se deben añadir antes del envío.

5.1.G. Documentación para el envío de mercancías peligrosas

El documento principal para el envío de mercancías peligrosas es la Declaración de Expedidor de Mercancías Peligrosas, cuyos apartados deberán completarse.

La Declaración del Expedidor sólo es necesaria para muestras biológicas clasificadas como sustancias infecciosas. Por lo tanto, no se requiere para muestras biológicas clasificadas como muestras de diagnóstico, aunque estén empaquetadas en hielo seco. La declaración se prepara por anticipado y, posteriormente, se incluye en el envío. En otras circunstancias, es la compañía de mensajería la que debe entregar las declaraciones previamente preparadas (preimpresas con la información básica). Sólo hay que añadir uno o dos textos breves de información específica inmediatamente antes del envío.

La Declaración del Expedidor es el único documento necesario para cumplir con las normas relativas a mercancías peligrosas. Sin embargo, se requieren otros documentos para los procedimientos aduaneros. En todos los envíos internacionales, las mercancías deben ir acompañadas de una factura proforma de la muestra. Y, adicionalmente, todos los envíos han de incluir un inventario del contenido.

5.1.H. Aspectos particulares para cada tipo de muestra

Procesar y analizar las muestras lo antes posible ha de ser la finalidad principal de todo laboratorio. En la actualidad, debido a la concentración de laboratorios y a que al-

gunas determinaciones sólo se realizan en laboratorios específicos, las muestras se deben transportar de unos laboratorios a otros. Se ha de tener presente que el transporte se puede realizar mientras se garantice que el resultado obtenido es el mismo que el de la muestra en el momento de la obtención. Por este motivo, se deben valorar una serie de consideraciones generales que son aplicables a todas las muestras. Las características específicas para cada tipo de muestra se exponen en los siguientes apartados.

H.1. Tejidos

A continuación, se describe el procedimiento adicional que deberá cumplirse para el envío de tejidos. Para el empaquetado y transporte se seguirá lo descrito anteriormente, con los requisitos adicionales descritos a continuación.

H.1.1. Transporte de tejidos

El transporte de tejidos desde el banco hasta el centro de destino se efectuará:

- A través de medios adecuados de transporte terrestre ordinarios.
- Mediante un sistema con capacidad para mantener las adecuadas características del tejido. Estos sistemas y condiciones de traslado los establecerá el banco según el tipo de tejido que se quiere trasladar.

Se acompañará de la siguiente información para su identificación:

1) Un etiquetado exterior en el que figure:

- Tejido: tipo de tejido humano.
- Procedencia y destino del paquete.
- Nombre de los responsables del envío y de la recepción, con sus direcciones y teléfonos.
- Día y hora de salida del banco.
- Instrucciones de transporte.

2) La documentación que obligatoriamente deberá acompañar el envío será:

- Descripción de las características del tejido y de las soluciones de preservación.
- Relación de las pruebas efectuadas.
- Instrucciones, en su caso, para la descongelación y la utilización.
- Código del banco que permita el seguimiento de los tejidos enviados.

H.2. ADN y ARN

Una vez adjudicadas ciertas muestras a un equipo de investigación, en el caso del ADN es más aconsejable enviar el material descongelado. Se deben descongelar poco a poco, pasando primero el tubo de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ y luego a temperatura ambiente. Se toma una pequeña alícuota del tubo del ADN madre y se coloca en otro tubo bien etiquetado para su transporte a temperatura ambiente. El tiempo de transporte se recomienda que no exceda de las 72 horas. En el caso del ARN, se acon-

seja transportarlo congelado mediante agentes crioprotectores y con inhibidores de RNAsas.

En cuanto al transporte de las muestras, desde el lugar de la extracción hasta el laboratorio, se deben tener en cuenta las siguientes consideraciones: el ADN es bastante estable y no es muy problemático el envío de cualquier muestra para la extracción del mismo y el posterior estudio. Se ha de enviar preferentemente –eso sí, en el mismo día de la extracción– en un servicio de 24 horas al laboratorio de referencia.

Las muestras de sangre fresca y de aspirados de médula se enviarán anticoaguladas y pueden viajar por correo, sin ningún problema, a temperatura ambiente si no hace mucho calor; si no es así, se enviarán refrigeradas. En caso de que no se pueda mandar en el día, se aconseja mantener la muestra en la nevera hasta unas 72 horas como máximo. Y, si aun así no es posible enviarla, se puede congelar a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y, cuando se pueda, se enviará congelada. Si se congela la muestra, se ha de tener en cuenta la precaución de cambiar previamente la sangre del tubo de extracción (generalmente de cristal) a un tubo de plástico (polipropileno) que aguante la congelación (el cristal puede estallar al congelarlo). De todas formas, es recomendable, además, realizar alícuotas por precaución.

Las muestras de sangre seca se mandan en sobres por correo ordinario, así como las muestras de raíces de cabello, sólo que en este último caso no se puede demorar la extracción del ADN de la raíz más allá de una semana.

Con respecto a las muestras de tejido sólido, se deben guardar las mismas precauciones que con las muestras líquidas. Las muestras parafinadas se envían en el día y a temperatura ambiente; deben llegar en menos de 24 horas al laboratorio de referencia (es preferible, por lo tanto, utilizar una mensajería). Las muestras de tejido en fresco para extracción de ADN, por ejemplo las vellosidades coriales, se envían suspendidas en suero fisiológico estéril y se deben recibir en menos de 24 horas, como ya se ha comentado previamente. Las muestras congeladas se envían en nieve carbónica.

El ARN mensajero, en cambio, es muy lábil y las condiciones para su envío, **al igual que para la extracción, deben ser muy estrictas**. Lo realmente óptimo para una prueba de ARN es procesar la muestra en un tiempo inferior a 30 minutos desde su obtención, si bien en el caso de tejidos líquidos se puede extraer el ARN de forma aceptable, aunque hayan pasado 24 horas, siempre que la muestra esté a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sin embargo, hay que tener presente que, a medida que pasa el tiempo desde la extracción, disminuyen las posibilidades de obtener una buena muestra.

En el mercado cada vez existen más tubos con reactivos estabilizadores del ARN que posibilitan el mantenimiento de la muestra, sobre todo de sangre periférica, a temperatura ambiente durante unos días, lo que ha facilitado enormemente el trabajo para su transporte (por ejemplo, se pueden mandar por correo ordinario en sobres acolchados). Pero, para las muestras de tejidos (por ejemplo, un tumor), si no se pueden procesar en el momento, es importante congelar el tejido inmediatamente después de la extracción, a poder ser con un agente crioprotector –como por ejemplo, el DMSO al 10%– y enviarlas en nieve carbónica por mensajero.

H.3. Células

Sobre su transporte, se deben seguir las recomendaciones de las muestras de tejido sólido para la determinación de ADN.

H.4. Fluidos

Hay unas consideraciones generales para el transporte de fluidos:

- Las muestras de sangre total tienen una caducidad bastante rápida.
- Las muestras de plasma y suero se han de separar lo antes posible de las células.
- Se recomienda que la separación se realice antes de las dos horas.
- Se deben mantener el mínimo tiempo posible las muestras en el área de extracción.

H.4.1. Temperatura

- No todas las propiedades biológicas se deterioran con la misma rapidez.
- La temperatura de conservación y transporte de la muestra influye mucho en algunas propiedades biológicas de las muestras.
- Algunas veces se deben hacer alícuotas de las muestras debido a que de la misma muestra hay determinaciones que han de conservarse a distintas temperaturas.
- En general, existen tres temperaturas de transporte: temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C), temperatura de refrigeración entre (4 y 8 °C), y temperatura de congelación (inferior a -18 °C).

H.4.2. Otras consideraciones

- Se recomienda que los tubos se transporten en posición vertical.
- Se deben evitar los movimientos bruscos y la agitación excesiva durante el transporte.
- La presión atmosférica también puede influir en las muestras.
- Se debe evitar el contacto directo con la luz, ya que altera algunas propiedades biológicas.
- Las muestras destinadas al examen de factores lábiles se deberían transportar al laboratorio tan rápidamente como fuese posible. Se debe garantizar que el transporte de estas muestras se realice en un tiempo máximo de cuatro horas, y que su temperatura se mantenga entre 8 y 25 °C.

Para la detección de muestras en malas condiciones es conveniente tener en cuenta las siguientes recomendaciones:

- Se observará cada tubo primario para confirmar que se ha llenado con un volumen adecuado. Los tubos obtenidos con exceso o defecto de sangre motivan una desproporción del agente anticoagulante, lo que conduce a resultados erróneos. El anticoagulante usado, su concentración, su relación con la sangre y la manera en la que la muestra es recolectada y procesada influyen de forma importante sobre los resultados.

- Deben desecharse todas las muestras hemolizadas (la hemolisis activa la coagulación), así como aquellas en las que se observen señales de coagulación (microcoágulos). Los resultados en estas muestras no son fiables en absoluto.
- Es necesario recordar que las poliglobulinas y las anemias importantes pueden producir resultados alterados de forma errónea, como consecuencia de la desproporción citrato/plasma, si no se ha previsto y, en consecuencia, modificado previamente.

5.2. La regulación jurídica de la importación y la exportación de muestras

La entrada y la salida de España de muestras biológicas para el diagnóstico o la investigación en humanos está regulada por el Real Decreto 65/2006, de 30 de enero, por el que se establecen requisitos para la importación y la exportación de muestras biológicas, que necesitan la autorización previa de la Dirección General de Salud Pública que se encuentra al final de su proceso de tramitación. El ámbito de aplicación de este real decreto se refiere a las muestras destinadas al diagnóstico o la investigación en seres humanos. La redacción literal no es suficientemente clara a efectos de entender si su aplicación se extiende a muestras biológicas para la investigación *in vitro*. No obstante, es la regulación más cercana sobre esta cuestión.

Dicha norma se aplica a cualquier material humano o de otra procedencia, patógena o no, que se destine al diagnóstico o a la investigación en humanos, excluyéndose de la misma los productos cuya importación y exportación está regulada en una normativa específica (por ejemplo, las materias primas destinadas a la elaboración de medicamentos o productos sanitarios, los medicamentos y los productos sanitarios, cosméticos y biocidas de uso clínico o personal).

Este Real Decreto habilita, como puntos fronterizos para la entrada y la salida de muestras, Barcelona, Bilbao, Madrid, Sevilla, Valencia y Málaga, y define los requisitos que se exponen a continuación.

5.2.A. Entrada

La solicitud de importación se debe presentar en la Dirección General de Salud Pública indicando el tipo de muestra que se desee.

A tales efectos, se acompañará de la siguiente documentación:

- Constatación de que existe un beneficio probado de la utilización de dicho tejido en el caso de tejidos procesados por técnicas no existentes en España.
- En el caso de tejidos que se procesen por técnicas existentes en España, cuando se comprueba la ausencia de disponibilidad de dichos tejidos en los bancos nacionales.

A tales efectos, se acompañará de la siguiente documentación:

- Una certificación sanitaria de origen en la que la autoridad competente en origen identifique el envío, especificando sus características y el posible riesgo sanitario si lo hubiere.
- Un documento de responsabilidad en el que el destinatario del producto se responsabilice de su correcta utilización y destrucción.
- Una acreditación de la actividad del importador. El importador debe estar suficientemente acreditado en función de su actividad y cumplir con la normativa de seguridad laboral aplicable a estos productos.
- Los envíos deberán cumplir las normas de transporte, embalaje, etiquetado y documentación que estipulan las normas nacionales e internacionales.
- Un modelo de despacho que después firmará el inspector de la aduana.

5.2.B. Salida

El interesado ha de presentar una declaración a la Dirección General de Salud Pública en la que figure la información necesaria para identificar la muestra y su destino. Se debe cumplir la normativa internacional de transporte aplicable a este tipo de muestras.

Cuando la autoridad sanitaria de destino exija un certificado sanitario de origen, éste se solicitará a la Dirección General de Salud Pública.

B.1. Transporte de material potencialmente peligroso

Se requiere que, en el transporte de las muestras biológicas, se observe lo dispuesto en las reglamentaciones nacionales e internacionales al respecto (ver apartado 5.1.D de este capítulo).

B.2. Registro de importadores y exportadores

Los importadores y exportadores que efectúen operaciones de importación o exportación de muestras al menos una vez al trimestre tienen la opción de darse de alta en un Registro de Importadores y Exportadores que se crea en el Ministerio de Sanidad y Consumo, dependiendo de la Dirección General de Salud Pública, gestionado por la Subdirección General de Sanidad Exterior. La inscripción en el registro exceptúa de la obligación de presentar caso por caso la certificación de la autoridad sanitaria de origen para llevar a cabo importaciones y habilita a los exportadores a obtener de forma automática el certificado sanitario de origen cuando éste sea exigido por la autoridad sanitaria de destino, determinando un tipo de productos y un periodo de tiempo en el que se efectúan las operaciones de importación y exportación.

Las instituciones o empresas que pretendan estar incluidas en dicho registro como importadores deben aportar:

- El documento de la autoridad sanitaria competente en el país de origen o de los centros autorizados a tal efecto que certifique que el centro expedidor cuenta con la autorización sanitaria para la manipulación y exportación de muestras, especificando el tipo de muestras para el que está autorizado.

- Un certificado de la autoridad sanitaria de la comunidad autónoma donde desarrolla su actividad en el que se indique que cuenta con los medios adecuados para la manipulación y la posterior destrucción del producto una vez utilizado y el tipo de muestras para el que están autorizados.
- En el caso de donantes de progenitores hematopoyéticos y bancos de sangre de cordón umbilical de países no pertenecientes a la UE reconocidos por la Asociación Mundial de Donantes de Médula (WMDA), así como en la búsqueda de donantes no emparentados, basta para la inscripción en el registro la aportación por la Organización Nacional de Trasplantes de una relación de los centros que realizan esa función y se encuentran acreditados para ello.

Las personas físicas o jurídicas están incluidas en dicho registro como exportadores y deberán presentar el certificado de la autoridad sanitaria competente dirigido a la Dirección General de Salud Pública, en el que se indique que cuenta con los medios adecuados para la obtención y la manipulación de las muestras, así como su adecuado envasado y transporte.

Los importadores y exportadores incluidos en dicho registro deberán renovar la inscripción cada cinco años y actualizarla cuando exista una modificación en el tipo de muestra a importar o exportar.

Las personas físicas o jurídicas inscritas en el registro únicamente tendrán que citar en las solicitudes de importación o exportación su número de inscripción en el registro y aportar la documentación que identifica las muestras.

5.3. Cautelas sobre el tratamiento de datos de carácter personal en la transferencia internacional de muestras biológicas identificadas o identificables

Por transferencia internacional de datos se entiende la transmisión de los mismos fuera de los Estados miembros de la Unión Europea y de los países que hayan suscrito el Convenio del Espacio Económico Europeo. La transmisión de información en el ámbito de dichos países no se considera transferencia internacional de datos, sino que se debe calificar como una mera cesión o comunicación de datos cuyo régimen jurídico es idéntico al de las que tengan lugar dentro del territorio nacional.

El fundamento jurídico de esta distinción consiste en que en el Espacio Económico Europeo existe un sistema armonizado de protección de los datos personales, de forma que puede concluirse que los países integrados en aquéllos ofrecen un nivel de protección adecuado o equiparable.

Las transferencias internacionales de datos que, como se ha señalado, son las transmisiones de información a terceros países que no garantizan dicho nivel de protección pueden presentar dos modalidades distintas: la cesión o comunicación de datos a terceros países o la prestación de servicios –en terceros países, como por ejemplo, el mero alojamiento de los datos– por cuenta de los responsables de ficheros establecidos en el territorio español.

La realización de transferencias internacionales de datos a terceros países que no dispongan de un nivel de protección equiparable al europeo constituye una de las principales preocupaciones de las autoridades nacionales y europeas de protección de datos. Esta preocupación se justifica porque, a partir del momento en que los datos personales se transfieren a terceros países sin un nivel de protección equivalente, las posibilidades de que se realicen tratamientos de datos sin garantías se multiplican exponencialmente.

Por esta razón, existe una especial sensibilidad respecto de dichas transferencias internacionales. Ahora bien, siendo conscientes de que en un mundo globalizado es necesaria la transmisión internacional de la información, se han buscado desde la perspectiva proteccionista europea procedimientos que permitan realizarlas con las garantías adecuadas.

La realización de transferencias internacionales de datos parte de la premisa básica de que el responsable de un fichero que pretende realizarlas ha de cumplir, en origen, las exigencias de la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal (LOPD). Es decir, el exportador de los datos debe cumplir las garantías establecidas en dicha norma.

Pero, además, el importador de los datos personales –la persona o entidad ubicada en el tercer país que no disponga de un sistema de protección equiparable al del lugar desde donde se transmiten los datos– debe contar con mecanismos que garanticen dicho nivel de protección adecuado o uno equivalente.

La prestación de tales garantías debe ser autorizada, como regla general, por la Agencia Española de Protección de Datos (AEPD). No obstante, la exigencia de esta autorización queda exceptuada en los supuestos previstos legalmente, entre los que consta el que el afectado haya dado su consentimiento inequívoco (e informado) a la transferencia prevista.

La Ley también permite las transferencias internacionales de datos en otros dos supuestos:

- Cuando la transferencia sea necesaria para la ejecución de un contrato entre el afectado y el responsable del fichero o para la adopción de medidas precontractuales adoptadas a petición del afectado.
- Cuando la transferencia sea necesaria para la celebración o ejecución de un contrato celebrado o por celebrar, en interés del afectado, por el responsable del fichero y un tercero.

Sin embargo, estas dos excepciones no resultan operativas cuando los datos objeto de tratamiento son datos especialmente protegidos, como es el caso de los datos genéticos, que se deben considerar como datos de salud.

Esta conclusión se apoya en que, en el tratamiento de dichos datos, la LOPD (artículo 7) sólo admite dos supuestos de legitimación: el consentimiento expreso del afectado o la habilitación en una norma con rango de ley.

Cuando no concurre alguna de las excepciones señaladas, la transferencia de datos a países que no garanticen un nivel adecuado o equivalente de protección exige la autorización del director de la AEPD.

Dicha autorización se puede conseguir sólo si se obtienen las garantías adecuadas, cuya evaluación se realizará por el director de la agencia, atendiendo a todas las circunstancias que concurren en la transferencia y, en particular, tomando en consideración: la naturaleza de los datos; la finalidad y la duración de los tratamientos de la información previstos; el país de origen y de destino final de los datos; las normas de derecho, generales o sectoriales, vigentes en el país tercero de que se trate; el contenido de los informes de la Comisión de la Unión Europea; así como las normas profesionales y las medidas de seguridad en vigor en dichos países.

Si se prestan garantías que cumplan los criterios expuestos, el director de la AEPD podría autorizar una transferencia internacional a cualquier país que se solicite.

No obstante, la necesidad creciente de efectuar transferencias internacionales de datos a países que no ofrecen un nivel de protección adecuado ha determinado que se hayan desarrollado procedimientos más estandarizados que permiten prestar tales garantías y facilitar los flujos internacionales de datos.

En este sentido, se han desarrollado los mecanismos que a continuación se detallan:

1) Transferencias a estados respecto de los cuales la Comisión Europea ha adoptado una decisión y ha declarado la existencia de un nivel adecuado de protección: en esta situación se encuentran Suiza (Decisión de la Comisión de 26 de julio de 2000), Canadá en determinados aspectos (Decisión de la Comisión de 20 de diciembre de 2000), la República Argentina (Decisión de la Comisión de 30 de junio de 2003), Guernsey e Isla de Man (Decisiones de noviembre de 2003 y abril de 2004).

No obstante, debe tenerse en cuenta que periódicamente la Comisión Europea evalúa si se mantienen las condiciones que permitieron adoptar la decisión de adecuación, pudiéndose –al menos en hipótesis– producir una revocación de la misma. Estas decisiones amparan la transferencia a cualquier persona o entidad, pública o privada, ubicada en dicho país.

2) Modalidades específicas de transferencia internacional amparada en decisiones de la Comisión Europea que tienen por destinatario a personas o entidades ubicadas en los EE.UU. (Decisión de 26 de julio de 2000 sobre los principios de puerto seguro): la peculiaridad de esta decisión afecta a dos aspectos. En primer lugar, no ampara la transferencia internacional dirigida a cualquier persona o entidad ubicada en los EE.UU., sino sólo las dirigidas a quienes, estando en dicho territorio, adoptan voluntariamente las garantías contempladas en el acuerdo de puerto seguro. En segundo lugar, esta decisión tiene la peculiaridad de que quienes efectúen dicha aceptación voluntaria del acuerdo han de suscribir no sólo los principios genéricos del mismo, sino también las denominadas FAQ. Las FAQ han de considerarse aclaraciones específicas que concretan los principios generales del acuerdo

que, por su indeterminación, ha suscitado preguntas y respuestas específicas sobre los mismos.

3) Otra posibilidad de realizar transferencias internacionales de datos es la que se basa en la suscripción por parte del exportador y del importador de los datos, de cláusulas contractuales que garanticen un nivel de protección adecuado en el tratamiento de la información personal: en este caso, el nivel de protección adecuado no se refiere a un país, sino sólo a las personas o entidades específicas que suscriben las cláusulas contractuales.

Dentro de esta modalidad se incluyen dos supuestos distintos:

- Las cláusulas contractuales para garantizar las transferencias entre dos responsables del fichero o tratamiento: exportador en España e importador en un tercer país sin nivel de protección adecuado (Decisión de la Comisión 2001/487/CE, de 15 de junio de 2001, modificada el 27 de diciembre de 2004).
- Las cláusulas contractuales entre un responsable del fichero o tratamiento ubicado en España y un prestador de servicios –encargado del tratamiento– ubicado en un tercer país que no garantiza el tantas veces mencionado nivel de protección adecuado (Decisión de la Comisión 2002/16/CE, de 27 de diciembre de 2001).

La normativa de protección de datos y las decisiones que se han mencionado prevén la posibilidad de suspender las transferencias internacionales de datos, previa audiencia del exportador, cuando concorra alguna de las siguientes circunstancias:

- Las autoridades de protección de datos del estado importador o cualquier otra autoridad competente en caso de no existir las primeras resuelven que el importador ha vulnerado las normas de protección de datos establecidas en su derecho interno.
- Existen indicios razonables de que se están vulnerando las normas o, en su caso, los principios de protección de datos por la entidad importadora de la transferencia, y que las autoridades competentes en el estado donde se encuentra el importador no han adoptado o no van a adoptar en el futuro las medidas oportunas para resolver el caso en cuestión, habiendo sido advertidas de la situación por la AEPD. En este caso, se podrá suspender la transferencia cuando su continuación pudiera generar un riesgo inminente de grave perjuicio a los afectados.

6. CESIÓN DE MUESTRAS PARA OTROS INVESTIGADORES

6.1. Usos de las muestras para investigación

La herramienta más útil para optimizar el uso de la muestra en investigación es la estructura de un biobanco. Los biobancos de una red tienen en común las siguientes características organizativas:

- El biobanco depende de un **servicio hospitalario o de un centro de investigación** cuya ubicación dependerá de la naturaleza de las muestras, de las cuales es depositario y responsable tras su obtención.
- Un **director o coordinador técnico**, responsable del funcionamiento científico del banco, incluyendo el estudio macroscópico, así como la selección y toma de muestras de especímenes quirúrgicos.
- Un **personal técnico** responsable del procesamiento, almacenamiento y conservación de las muestras.
- Un **presupuesto, espacio y equipamiento** adecuados para la actividad del biobanco.
- La adopción de un **protocolo de trabajo estandarizado** que asegura el cumplimiento de los requisitos ético-legales en el manejo de muestras, la correcta manipulación y el almacenamiento de los especímenes, así como su adecuada distribución y uso para investigación.
- El compromiso de **acción cooperativa** entre los bancos de la red. Implica la interconectividad informática regional y nacional, así como la disposición a compartir muestras regional y nacionalmente. La interconectividad informática se detalla en el capítulo IV.

Las muestras almacenadas en un banco de ADN y ARN pueden servir para numerosos trabajos de investigación. La cesión para un determinado proyecto de investigación debe estar bien cuidada tanto en el tipo de muestra de que se trate (anónima o no) como en el tipo de consentimiento informado que la persona donante o el paciente hayan realizado. En una palabra, para cualquier cesión o transferencia de ADN/ARN por parte del banco, deberá existir un contrato entre los responsables del banco y el equipo de investigación del proyecto que se quiere realizar.

6.2. Gestión de las peticiones de material

Es cada vez más frecuente que se establezcan relaciones de colaboración entre las instituciones que gestionan colecciones de muestras o biobancos; por esta razón, es importante disponer de un sistema adecuado de intercambio y de cesión de muestras.

La gestión de las muestras (obtención, procesamiento, conservación y distribución) se realizaría en cada hospital o centro de investigación. El nodo de coordinación de la red (si ésta existe), además de gestionar su propio biobanco, es habitualmente el encargado del dispositivo central de información de la red de biobancos, para lo que recibiría las actualizaciones de datos de los bancos o colecciones locales mediante los dispositivos informáticos (registros locales) que, al efecto, incorporaría el sistema de información de la red y de la gestión, así como la coordinación de las solicitudes de material que a ella se dirijan. Los bancos o colecciones de cada centro deberían tener autonomía para la gestión de sus muestras con el compromiso de ceder material en caso de requerirse para solicitudes no asumibles por otro banco o colección local. El nodo de coordinación de la red debe velar por la participación de todos los bancos en la cesión de material.

Habitualmente, cualquier investigador perteneciente a una red de trabajo podrá solicitar muestras al banco o a la unidad de coordinación de una red cooperativa. Aunque para cada banco los requisitos pueden cambiar, éstos incluyen que el proyecto tenga viabilidad científica, técnica y ética. Para ello, se suele enviar con la solicitud una me-

moria explicativa del proyecto, que se somete a una evaluación anónima por pares. Esta última no es necesaria si se trata de un proyecto que cuenta ya con la aprobación de la Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva (ANEP) u otra agencia nacional de evaluación. En el caso de que la solicitud se haga al nodo coordinador de una red cooperativa, será responsabilidad del mismo localizar en la base de datos un número suficiente de casos que reúnan las características previstas en el proyecto, así como su envío al equipo investigador. Además, será preciso lógicamente el informe favorable del Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) correspondiente.

En el sistema informático de cada banco debe quedar constancia de las solicitudes recibidas, del curso que han seguido y del resultado obtenido (aprobada, rechazada). Asimismo, debe quedar un registro de las transacciones realizadas con las muestras, del destino que han tenido, así como de su uso, para asegurar una perfecta trazabilidad de cada muestra.

La oficina central de una red cooperativa puede emitir documentos para avalar la disponibilidad de cierto tipo de muestras con el fin de lograr financiación de cualquier agencia de investigación, aunque el envío de muestras no tendrá lugar mientras no se cumplan los requisitos expresados en el párrafo anterior.

Por los mismos fundamentos jurídicos, tampoco podrá cobrarse una contraprestación cuando se cedan las muestras a otros investigadores, pero sí podrá exigirse el pago de los gastos de transporte y conservación de la muestra.

6.3. Aplicación de los principios de protección de datos de carácter personal en la cesión de las muestras

La cesión de las muestras es su transferencia a una persona distinta de aquella que se encargó de la obtención. El artículo 7 de la LOPD prevé que el tratamiento de los datos de carácter personal relativos a la salud, que incluye la cesión de los mismos, se lleve a cabo con consentimiento expreso, salvo los casos previstos en la Ley.

El consentimiento expreso para la cesión de datos de carácter personal relativos a la salud es preciso incluso cuando la misma tenga fines históricos, estadísticos o científicos. En efecto, a pesar de las excepciones previstas para el régimen general de tratamiento de datos, según las cuales no se precisa consentimiento expreso cuando se traten datos con aquellas finalidades (artículo 11 de la LOPD), se ha de tener en cuenta que los datos relativos a la salud son objeto de un régimen específico, que es el establecido en el artículo 7.

Así pues, cuando una muestra donada para investigación vaya a ser cedida por parte de quien la recibió (un investigador o un biobanco) a un tercero, se debe recabar el consentimiento expreso previo del sujeto fuente.

Ahora bien, no parece que existan argumentos jurídicos para descartar que el sujeto pueda otorgar un consentimiento general para cualquier cesión siempre que tenga por objeto la utilización de la muestra con la misma finalidad que la que justificó el consentimiento que pudiera manifestarse en el momento de la donación. Se ha de tener

presente, en este caso, que subsisten todos los derechos del sujeto a los que se ha hecho referencia, entre los que cabe destacar: en primer lugar, todos los implicados están obligados por el deber de secreto; en segundo lugar, el sujeto tiene derecho de acceso a cualquier información que se obtenga, ya sea por el destinatario de su donación o por el tercero que la recibió tras una cesión; en tercer lugar, tiene derecho de revocación del consentimiento con los efectos correspondientes, que se extenderán en su caso a las actividades del tercero que la recibió tras la cesión.

El consentimiento para la cesión prestado en estos términos es compatible con la obligación de que el sujeto conozca la finalidad para la que se destinarán los datos cuya comunicación se autoriza o el tipo de actividad de aquel a quien se pretenden comunicar, establecida en el artículo 11.3 de la LOPD.

7. PROCESAMIENTO. IMPLICACIONES JURÍDICAS DEL USO DE LA MUESTRA

Si el sujeto fuente de la muestra no ha prestado su consentimiento expreso para que este material se utilice con fines de investigación (por ejemplo, si se trata de muestras de un fallecido o de muestras obtenidas únicamente con finalidad clínica), según el ordenamiento jurídico vigente la muestra ha de anonimizarse, puesto que no cabe presunción para obtener datos de carácter personal relativos a la salud, ni se pueden obtener sin el consentimiento de investigación científica. Incluso tratándose de fallecidos, el carácter compartido de los datos genéticos (en función de lo cual la muestra “soporta información” de los familiares vivos) y la persistencia en la protección de algunos derechos son argumentos para sostener esta postura.

En efecto, existen límites para acceder a la información sobre la salud de los fallecidos que sólo se permitirá cuando exista un interés vital o el que lo pretenda sea un familiar, siempre que no constara una posición contraria y, tras el fallecimiento, subsisten las acciones civiles en defensa del honor y la intimidad. En este sentido, sí se podrá analizar la muestra identificada de un fallecido cuando quede justificado por el beneficio clínico que pudiera reportar a sus familiares.

Por el contrario, en el caso de que el sujeto preste expresamente su consentimiento para la utilización de su muestra en investigación biomédica, no hay impedimento para asociar a su identidad la muestra misma y los datos que se obtengan.

La cuestión es determinar en qué términos se debe expresar dicho consentimiento, cómo ha de interpretarse la obligación de información previa y cuál ha de ser su precisión. En definitiva, se trata de averiguar si una muestra puede ser donada para cualquier investigación o el consentimiento ha de ser expreso para un determinado proyecto. Lo que parece apropiado es que el CEIC valore si la finalidad de la obtención de la muestra biológica se ha establecido en unos límites razonables.

Lo recomendable es que se solicite el consentimiento en los términos más específicos posibles. No quedan totalmente cerradas otras posibilidades (al menos en el ac-

tual marco jurídico) si se cumplen determinados requisitos, en función de los cuales sea proporcional la protección del derecho del sujeto a la protección de sus datos con el fin que se persiga:

- Se debe justificar la utilidad científica de manera más rigurosa cuanto más genérico sea el consentimiento.
- Se ha de garantizar que el sujeto de la muestra tiene la posibilidad de revocar el consentimiento y la consecuente destrucción o anonimización de la muestra.
- Se debe solicitar siempre consentimiento específico cuando se trate de determinadas categorías de investigación en función del criterio de un Comité Ético de Investigación Clínica encargado de revisar estas investigaciones, por ejemplo, aquellas que indaguen en determinadas características de un grupo étnico o tendencias de comportamiento.
- El consentimiento habrá de precederse de la información pertinente. Esta información debería incluir el carácter voluntario de la obtención de la muestra, el carácter voluntario del análisis, la información que podría derivarse del análisis (en general), el uso que se hará de esta información, el derecho del sujeto de acceder a la información que se obtenga referida a él mismo, el derecho a la confidencialidad de los resultados, el derecho a que se anonimice la muestra, el derecho a consentir a las cesiones, la advertencia sobre la importancia de los resultados de los análisis para familiares, y la disponibilidad de consejo genético, cuando proceda. Si el consentimiento se prestó específicamente para una investigación concreta, no es válido para otra, aunque esté directamente relacionada con la primera. Ahora bien, el consentimiento del sujeto para el tratamiento de sus datos (es decir, para la utilización de la muestra) engloba otros tratamientos en las mismas circunstancias y con los mismos fines. Esto es, el consentimiento para una investigación con una determinada metodología engloba la utilización de otros métodos en la misma investigación (hay que tener en cuenta que las técnicas de investigación y, en concreto, de análisis molecular, evolucionan vertiginosamente, lo cual hace muy difícil informar con exactitud de las investigaciones que se van a efectuar sobre la muestra en pocos años).

En cuanto a la licitud de solicitar consentimientos más genéricos no se ha resuelto específicamente este aspecto en el ordenamiento jurídico español por el momento. Por una parte, hay que recordar que el artículo 3.h) de la LOPD define el consentimiento del interesado como “toda manifestación de voluntad, libre, inequívoca, específica e informada, mediante la que el interesado consienta el tratamiento de datos personales que le conciernen”.

Es cierto que la especificidad se refiere a que la voluntad del sujeto se dirija a un destino concreto y, por consiguiente, se descarten otros (especificidad es distinguir una especie de otra): si se consiente el tratamiento para investigación científica, se están excluyendo otros propósitos, como por ejemplo la publicidad, de manera que se especifica el destino de los datos.

Por otra parte, para la participación en investigación el consentimiento se debe obtener para cada estudio de forma específica. Así lo prevé la Ley 41/2002 (artículo 8.3:

“El consentimiento escrito del paciente será necesario para cada una de las actuaciones especificadas en el punto anterior de este artículo, dejando a salvo la posibilidad de incorporar anejos y otros datos de carácter general, y tendrá información suficiente sobre el procedimiento de aplicación y sobre sus riesgos”), el artículo 7 del Real Decreto 223/2004 sobre ensayos clínicos, que prevé el consentimiento tras haber entendido los objetivos y otras circunstancias del ensayo concreto, y el artículo 16.v) del Convenio de Oviedo (“No podrá llevarse a cabo investigación alguna en una persona a menos que se cumplan las condiciones siguientes: (...) v) que el consentimiento a que se refiere el artículo 5 sea otorgado expresa, específicamente y por escrito. Este consentimiento puede ser libremente revocado en todo momento”).

Sin embargo, el fundamento de dicha exigencia es que en estos supuestos se lleva a cabo una injerencia en la integridad que se justifica mediante aquella declaración de voluntad, mientras que en el caso del que nos ocupamos parece que los posibles riesgos para el individuo se limitan a su derecho a la protección de datos de carácter personal y no se ven implicados otros que sí cobran relevancia cuando se trata de una experimentación o una investigación *in vivo* en las cuales la salud del paciente puede verse directamente afectada.

En el caso de la muestra, el consentimiento genérico para su utilización representa no sólo la utilización de unos datos concretos conocidos por su titular, sino la potencial obtención de toda la información genética.

Es cierto que el consentimiento para que de una muestra se pueda obtener cualquier información genética en cualquier investigación científica (potencialmente toda la relativa a un sujeto) parece, en principio, una pérdida demasiado extensa de control de datos de carácter personal por parte del sujeto y una opción desproporcionada.

Lo que parece apropiado, en conclusión, es que el investigador redacte el modelo de consentimiento según las necesidades y objetivos de su trabajo, y opte por la alternativa que le resulte más apropiada: consentimiento a la investigación para un estudio determinado, consentimiento a la investigación para un estudio determinado con la posibilidad de futuros consentimientos para otros proyectos, consentimiento a la investigación con la muestra disociada para cualquier estudio, o bien consentimiento más genérico para la investigación con la muestra no anonimizada, en los términos y condiciones señaladas más arriba.

Es recomendable que los investigadores valoren la utilidad de las muestras para el futuro una vez que acabe el proyecto para el cual se recogieron, y tengan en cuenta esta circunstancia a la hora de recabar el consentimiento de los participantes.

8. PRÁCTICAS DE SEGURIDAD

El empleo de células o tejidos humanos implica un posible riesgo de transmisión de patógenos. Todas las muestras con reconocida capacidad infecciosa deben llegar al banco debidamente identificadas como tales para la toma de medidas especiales de

manipulación o almacenamiento, entre otras, o incluso para que se rechacen si el banco no se encuentra preparado para asumir los riesgos inherentes a estas muestras. No obstante, en ocasiones resulta imposible conocer la posible capacidad infecto-contagiosa de las muestras. Por ello, este material ha de ser siempre manejado con las máximas precauciones.

En cualquier caso, es preciso observar determinadas medidas de seguridad que protegen a las personas que las manejan y evitan la contaminación. En este sentido, las normas exigen ciertas condiciones de trabajo, de protección de las muestras y de tratamiento de los residuos.

8.1. Condiciones de trabajo

De forma rutinaria, es necesario mantener los cuidados necesarios para evitar estas contaminaciones: usar guantes e indumentaria de laboratorio; mantener la indumentaria de laboratorio exclusivamente en el mismo y no usarla fuera de éste; en el caso de trabajar en cabina, hacerlo en el tipo de flujo vertical y desinfectar periódicamente la zona de trabajo. Si se trabaja con células contaminadas, es necesario seguir la normativa específica establecida en su caso.

Es preciso observar las precauciones necesarias en función de las condiciones de trabajo, por ejemplo, los operarios de los sistemas de almacenamiento con nitrógeno líquido –un elemento potencialmente dañino dada la posibilidad de causar congelación instantánea de zonas corporales expuestas accidentalmente– deben llevar guantes especiales, pantallas oculares o gafas protectoras, así como ropa protectora.

Se deben observar las normas establecidas en los siguientes textos legales:

- Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales y Ley 54/2003, de 12 de diciembre, de reforma del marco normativo de la prevención de riesgos laborales.
- Real Decreto 39/1997, de 17 de enero, por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención.
- Real decreto 664/1997, de 12 de mayo, sobre protección de los trabajadores contra riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.
- Directiva 2000/54/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de septiembre de 2000, sobre protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.
- Real Decreto 773/97, de 30 de mayo, sobre disposiciones mínimas de seguridad y salud relativa a la utilización por los trabajadores de equipos de protección individual.

8.2. Protección de las muestras

Las muestras se deben almacenar en zonas de acceso restringido con el fin de minimizar la posibilidad de contaminación del personal y del ambiente, así como de asegurar las condiciones de calidad.

Los congeladores donde se almacenan las muestras deben estar cerrados con llave y en habitaciones con control de acceso físico (llave, tarjeta magnética, etc.). Para evitar el deterioro de las muestras por descongelaciones imprevistas, como un corte en el circuito eléctrico, por ejemplo, se debe colocar siempre el congelador conectado a un sistema con grupo electrógeno. El almacenamiento en congeladores de nitrógeno líquido se debe realizar utilizando viales que soporten las bajas temperaturas del medio sin romperse. En caso de rotura, se ha de vaciar el recipiente, dejar que el nitrógeno líquido se evapore y proceder a su limpieza.

Se ha de tener en cuenta la siguiente legislación:

- Real Decreto 255/2003, de 28 de febrero, por el que se aprueba el Reglamento sobre clasificación, envasado y etiquetado de preparados peligrosos.
- Real Decreto 363/1995, de 10 de marzo, por el que se aprueba el Reglamento sobre la declaración de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas, y Real Decreto 99/2003, de 24 de enero, que lo modifica.
- Real Decreto 379/2001, de 6 de abril, por el que se aprueba el Reglamento de almacenamiento de productos químicos y sus instrucciones técnicas complementarias.

8.3. Tratamiento de residuos

8.3.A. Según el tipo de residuo

En función del tipo de residuo se procederá de la siguiente manera.

A.1. Residuos biológicos asimilables a los urbanos

Habitualmente, se trata de materiales sólidos no cortantes ni punzantes, como papeles, guantes, plásticos, gasas, etc., contaminados con sangre y fluidos biológicos. Para la recogida de estos residuos se recomienda el uso de bolsas de 220 mg/cm² de galga, en contenedores de basura especiales. Su eliminación se efectuará como residuos asimilables a los urbanos.

A.2. Residuos sólidos biológicos especiales

Tienen un potencial infeccioso superior a los residuos sólidos urbanos. La gestión de estos residuos se realizará conforme a lo establecido en la Ley 10/1998, de 21 de abril, de Residuos, y su normativa de desarrollo. En este tipo de residuos se incluyen materiales punzantes y cortantes, como agujas, hojas de bisturí, restos de vidrio roto, etc., que han estado en contacto con sangre y fluidos biológicos o con material procedente de actividades microbiológicas. Estos residuos especiales se deben acumular separadamente de todos los demás tipos en envases exclusivos rígidos, impermeables e interiormente inaccesibles. Estos envases son de un solo uso y, una vez cerrados, no se pueden volver a abrir. Han de mantenerse intactos hasta su recogida, evitando presiones y golpes que puedan afectar su integridad durante su almacenamiento o transporte. Su eliminación final se debe realizar por una entidad autorizada.

Residuos sólidos procedentes de cultivos microbiológicos no patógenos: están constituidos por placas de Petri, tubos de ensayo, matraces, etc., que contienen medio sólido de cultivo. Estos residuos se colocan en bolsas resistentes al autoclave para su esterilización con este medio. Una vez realizada la operación, los residuos se recogen por el personal encargado de esta actividad.

A.3. Residuos biológicos líquidos

Se inactivan con lejía de uso doméstico (hipoclorito sódico al 10%) durante 30 minutos, pudiéndose eliminar a continuación por el desagüe. Conviene precisar que el uso indiscriminado de lejía puede provocar contaminación ambiental. La disolución de lejía doméstica aquí indicada es suficiente, pero no se deben utilizar disoluciones más concentradas.

8.4. Listado de medidas preventivas

Las medidas preventivas que se han de tomar en la realización de cualquier operación que se lleve a cabo en un laboratorio de biotecnología o de tipo biológico (cultivos, centrifugaciones, análisis, etc.) son las siguientes:

1) Precauciones generales relativas al local:

- Establecer normas de seguridad en el trabajo de cada laboratorio acordes a sus características.
- Implicar a todo el personal del laboratorio en el cumplimiento de las normas de seguridad que se dictaminen.
- Limitar el acceso al laboratorio, permitiendo la entrada únicamente al personal autorizado.
- Señalar el riesgo biológico en todas las áreas de los laboratorios catalogados de nivel de contención 2 en adelante.
- Limpiar y desinfectar diariamente todas las superficies de trabajo, así como cuando se produzca un derrame.
- Mantener el laboratorio limpio y ordenado, y evitar utilizar los pasillos como almacén. Siempre debe quedar un espacio libre no inferior a 120 cm para poder evacuar el local en caso de emergencia.

2) Precauciones durante el desarrollo del trabajo:

- Evitar el empleo de libros y material de escritorio en el área de trabajo, ya que el papel contaminado es difícil de esterilizar.
- Está rigurosamente prohibido pipetear con la boca. El pipeteo se llevará a cabo con dispositivos especialmente diseñados al efecto, para cuyo uso correcto se entrenará adecuadamente al personal.
- Ha de limitarse el uso de agujas hipodérmicas y jeringas, debiendo utilizarse únicamente las unidades ya montadas.
- No debe volver a ponerse la capucha a las agujas y éstas no deben ser dobladas ni separadas de la jeringa.
- Las agujas y jeringas usadas, así como los bisturís, se deben desechar únicamente en contenedores especiales diseñados para este propósito.

- Cuando se centrifugue material biológico potencialmente infeccioso se deben utilizar tubos cerrados. La centrífuga ha de disponer de rotores o cestillos de seguridad que eviten la formación de aerosoles.
- La rotura accidental de un tubo y su vertido en la cubeta representa una incidencia importante que debe ser comunicada inmediatamente al responsable del laboratorio y al Servicio de Prevención de Riesgos Laborales; se procederá inmediatamente a la desinfección segura del equipo.
- No se deben utilizar centrifugas que no dispongan de sistema de cierre de seguridad, ni manipular tales equipos de forma que puedan abrirse mientras están en funcionamiento y formar aerosoles.
- Si el laboratorio dispone de ultracentrífugas, es fundamental llevar a cabo el equilibrado cuidadoso del rotor.
- Los derrames y accidentes, como cortes y pinchazos, deben ser informados inmediatamente al responsable del laboratorio y al Servicio de Prevención de Riesgos Laborales; asimismo, deben constar por escrito.

3) Reglas de higiene personal:

- Cubrir heridas y lesiones con apósitos impermeables antes de comenzar el trabajo. Si las lesiones no pueden cubrirse adecuadamente, no deben exponerse hasta que curen.
- Retirar anillos y otras joyas.
- Evitar el contacto de la piel con materiales potencialmente infecciosos. Para ello, cuando se manipulen muestras que contengan posibles agentes patógenos, se deberán usar guantes de látex o de silicona, que se retirarán siempre antes de salir del área de trabajo.
- Jamás se abandonará el laboratorio con los guantes puestos ni se cogerá con ellos el teléfono.
- Tras quitarse los guantes, se procederá al lavado de las manos mediante jabones antisépticos.
- Usar gafas protectoras y mascarillas faciales si existe riesgo de salpicaduras o de formación de aerosoles.
- No se deben usar lentes de contacto.
- No se debe comer, beber o fumar, así como tampoco aplicarse cosméticos en las áreas de trabajo. Asimismo, queda prohibido guardar alimentos o bebidas en las citadas áreas.
- El personal con el cabello largo debe llevarlo recogido.

9. EXPLOTACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

9.1. La relación con el paciente

Los aspectos económicos o comerciales también están presentes en relación con la donación de las muestras. Aquí se plantea la cuestión de si la persona de la que procede la muestra tiene o no derecho a recibir beneficios económicos derivados de la comercialización del fármaco o del producto una vez que ha sido patentado.

En el problema con la comercialización están implicados dos principios bioéticos: en primer lugar, el principio de altruismo, vigente en la mayoría de las legislaciones sobre trasplantes de órganos (en este sentido, la fuente del tejido o del órgano no puede recibir remuneración económica porque se entiende que hace “un regalo” a la ciencia y a la sociedad); en segundo lugar, el sistema de valores vigente en nuestras sociedades establece que el cuerpo humano y sus partes no deben ser objeto de transacción comercial. La pregunta que surge inmediatamente es si se pueden aplicar estos dos principios bioéticos tradicionales al marco de la donación de las muestras para investigación.

9.2. El marco jurídico aplicable

El marco jurídico al que se debe atender para estudiar esta cuestión está principalmente integrado por la Directiva 98/44/CE, sobre protección jurídica de invención biotecnológica que fue objeto de transposición en el ordenamiento jurídico español a través de la Ley 10/2002, de 29 de abril, que modificó la Ley de Patentes.

También se ha de tener en cuenta el artículo 21 del Convenio de Biomedicina del Consejo de Europa, que establece: “El cuerpo humano y sus partes, como tales, no deberán ser objeto de lucro”, asentado en el principio de la dignidad humana. Los órganos y tejidos, incluida la sangre, no deben ser comprados o vendidos o generar cualquier ganancia financiera para la persona a quien se le han extraído o para un tercero, ya sea una persona física o jurídica como, por ejemplo, un hospital o un centro de investigación. Sin embargo, los trabajos técnicos, como la toma de muestras, las pruebas, la esterilización, el fraccionamiento, la purificación, el almacenamiento, el cultivo, el transporte, etc.) que se realizan a partir de los órganos y tejidos sí pueden dar lugar a una legítima y razonable remuneración. De este modo, este artículo no prohíbe la venta de medicamentos que contengan tejido humano que ha sido sometido a un proceso de elaboración, siempre que no se venda el tejido como tal. Al mismo tiempo, no impide que la persona a quien se le ha extraído el tejido reciba una compensación equitativa por los gastos que ha sufrido o las pérdidas por el ingreso (en el caso de hospitalización), siempre que esa compensación no constituya una remuneración.

La Propuesta de Instrumento sobre el uso de materiales biológicos humanos almacenados con fines de investigación del Consejo de Europa en su artículo 8 es fiel al espíritu del principio establecido en el artículo 21 del Convenio de Biomedicina. Se reconoce que, en muchos casos, los productos biotecnológicos se han desarrollado a partir de una muestra biológica y, en la mayoría de los casos, resulta difícil cuantificar la participación que esa muestra concreta ha tenido en la consecución final del producto; por tal motivo, resultaría también difícil determinar la cuantía que le podría corresponder al titular de la muestra en una potencial comercialización del producto. Para los redactores de este instrumento es distinto el caso en el que la línea celular “rentable” se ha conseguido en exclusiva de un individuo, y se plantean que quizá en este caso sí fuera permisible algún tipo de remuneración. Para evitar comercializaciones del cuerpo humano y alguna que otra situación injusta, lo único que cabría aplicar sería una compensación económica como en el caso de la donación de gametos. Además, podría resultar muy difícil discernir esa participación “en exclusiva”.

También la Carta de los Derechos fundamentales de la Unión Europea en su artículo 3.2 prohíbe expresamente que el cuerpo humano o las partes del mismo, como tales, se conviertan en objeto de lucro.

Se ha de considerar que, en el ejercicio de presunciones, lógicamente se excluye del consentimiento del sujeto la utilización perjudicial de la muestra. Es decir, como señala la Recomendación 3 (1992) del Consejo de Europa, sobre pruebas genéticas de cribado y fines sanitarios: “Las muestras recogidas con fines médicos o científicos concretos no se podrán utilizar, sin el permiso de las personas interesadas o las personas legalmente facultadas para otorgar el permiso en nombre y representación de aquéllas, de ninguna manera que pudiera resultar perjudicial para las personas interesadas” (principio 13).

Pero tampoco se puede otorgar el consentimiento para usos que, sin ser estrictamente perjudiciales, pudieran representar una injerencia en sus derechos fundamentales. No se debe olvidar que la muestra es un material potencialmente generador, tanto con fines terapéuticos como reproductivos, y que puede ser objeto de manipulación genética. No puede deducirse que el sujeto fuente abandona la muestra para cualquier uso que se quiera hacer de ella, aunque sea lícito, como la reproducción. Cuando se pretenda utilizar una parte del cuerpo con estas finalidades, habrá que cumplir la regulación específica de estos usos y será preciso un consentimiento expreso.

En función de lo anterior, se adelanta que la persona de la que provenga la muestra nominativa tiene que dar su consentimiento para su almacenamiento, debiendo informar acerca de dónde y para qué fines se almacena. Además, la muestra sólo se podrá utilizar para los fines que justificaron su recogida y se conservará por el periodo necesario para llevarlos a cabo.

Es decir, la muestra es objeto de los principios de la protección de datos de carácter general como un soporte de información asimilable en cierto sentido a la historia clínica, a lo que habrá de añadir las previsiones legislativas de utilización de partes del cuerpo. Siguiendo este criterio, no se podrán almacenar muestras de personas identificables de forma rutinaria tras extracciones quirúrgicas o análisis de sangre, por ejemplo, sin una finalidad concreta (*sensu contrario*, si se considera necesario para la atención al paciente el almacenamiento estaría justificado).

9.3. ¿Se puede patentar un producto derivado de una muestra biológica?

La Directiva 98/44/CE parte del principio de que el cuerpo humano en los diferentes estadios de su constitución y de su desarrollo, así como el simple descubrimiento de uno de sus elementos, incluida la secuencia o la secuencia parcial de un gen, no podrán constituir invenciones patentables (artículo 5.1). No obstante, la propia directiva reconoce que es necesario indicar que no queda excluida la posibilidad de patentar las invenciones susceptibles de aplicación industrial que se refieran a un elemento aislado del cuerpo humano o producido de otra forma mediante un procedimiento técnico, aun en el caso de que la estructura de este elemento sea idéntica a la de un elemento

natural, dando por sentado que los derechos de la patente no pueden abarcar el cuerpo humano o sus elementos en su entorno natural. Por lo tanto, no queda excluida la posibilidad de patentar dicho elemento aislado del cuerpo humano o producido de otro modo, puesto que es el resultado de procedimientos técnicos que lo han identificado, purificado, caracterizado y multiplicado fuera del cuerpo humano, técnicas que sólo el ser humano es capaz de desarrollar y que no se presentan espontáneamente en la naturaleza.

Cuando se conceda una patente sobre una invención derivada de una muestra biológica, se han de cumplir los tres requisitos clásicos de patentabilidad, a saber, la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial, y en estos casos el texto de la directiva exige que la aplicación industrial (utilidad) se deberá indicar de forma concreta en la solicitud de patente tal y como haya sido presentada. Cualquier clase de invención, además de cumplir con estos requisitos, ha de ser sometida a otros controles denominados tradicionales en el derecho de patentes, puesto que en definitiva contienen las excepciones clásicas en el derecho de patentes: en primer lugar, que su publicación o explotación no sea contraria al orden público o a las buenas costumbres (artículo 53 del Convenio de la Patente Europea); y, en segundo lugar, que su objeto no recaiga en una variedad vegetal, en una raza animal o en un procedimiento esencialmente biológico de obtención de vegetales o de animales –artículo 53.b) del Convenio de la Patente Europea–.

Desde el punto de vista eticocultural, la cultura europea ha venido considerando la existencia de límites a la patentabilidad o a la proyección de derechos económicos sobre el cuerpo humano orientados al respeto de la dignidad humana. Basándose en esto, las legislaciones internacionales, europeas y nacionales sobre patentes aluden a ello mediante la inclusión de cláusulas excluyentes con referencias al “orden público”, las “buenas costumbres” e incluso la “moralidad”. Los conceptos de orden público y de buenas costumbres son conceptos jurídicos indeterminados, estándares jurídicos que se deben interpretar conforme a las reglas habituales en cada ordenamiento positivo, pero que en definitiva acogen entre otros contenidos la barrera de carácter ético; asimismo, conviene aclarar que, como se trata de conceptos que son excepciones a la patentabilidad, se han de interpretar de manera restrictiva y no expansiva.

Tras la aprobación de la Directiva 98/44/CE, se establece una lista orientativa de las invenciones no patentables con la finalidad de proporcionar a los jueces y a las oficinas nacionales de patentes una guía para interpretar la referencia al orden público o las buenas costumbres, si bien no se puede pretender que la misma sea exhaustiva.

Esta lista orientativa señala excluidos de patente:

- Los procedimientos de clonación de seres humanos.
- Los procedimientos de modificación de la identidad genética germinal.
- La utilización de embriones humanos con fines industriales o comerciales.
- Los procedimientos de modificación de la identidad genética de los animales que supongan, para éstos, sufrimientos sin utilidad médica sustancial para el hombre o el animal y los animales resultantes de tales procedimientos.

Por lo tanto, nada se dice sobre la prohibición de patentar un producto derivado de una muestra biológica, siempre que el mismo cumpla con los tres requisitos de patentabilidad y no sea contrario al orden público ni a las buenas costumbres y que, además, su objeto no recaiga sobre una variedad vegetal, una raza animal o un procedimiento esencialmente biológico de obtención de vegetales o de animales. No se puede pasar por alto que se han realizado avances decisivos en el tratamiento de las enfermedades, merced a la existencia de medicamentos derivados de elementos aislados del cuerpo humano y/o producidos de otro modo, de medicamentos que son producto de procedimientos técnicos destinados a obtener elementos de una estructura similar a la de los elementos naturales que existen en el cuerpo humano; por consiguiente, conviene fomentar, mediante el sistema de patentes, la investigación conducente a la obtención y el aislamiento de los elementos valiosos para la producción de medicamentos.

De todos modos, la patente de invención no autoriza a su titular a dar aplicación a la invención, sino que se limita a conferirle el derecho de prohibir a terceros su explotación con fines industriales y comerciales y que, por lo tanto, el derecho de patentes no puede sustituir ni dejar sin efecto las legislaciones nacionales, europeas e internacionales que fijan, en su caso, limitaciones o prohibiciones, o que organizan el control de la investigación y de la utilización o comercialización de sus resultados, especialmente en relación con los requisitos de salud pública, seguridad, protección del medio ambiente, protección de los animales, conservación de la diversidad genética y respeto de determinadas normas éticas.

9.4. La cuestión del consentimiento como posible requisito de patentabilidad

Teniendo en cuenta la legislación sobre la protección jurídica de las invenciones biotecnológicas, en concreto la Directiva 98/44/CE, su considerando 26 trata sobre la necesidad de consentimiento informado en las patentes que contengan materia biológica de origen humano y establece que “cuando se presente una solicitud de patente de una invención que tiene por objeto una materia biológica de origen humano o que utiliza una materia de este tipo, la persona a la que se le hayan realizado las tomas deberá haber tenido ocasión de dar su consentimiento libremente y con la debida información sobre dichas tomas, de conformidad con el derecho nacional”.

Si bien es cierto que los considerandos de las directivas no tienen valor normativo, sí que resultan de gran consideración para la interpretación de las normas contenidas en el texto legal. En efecto, el consentimiento no podrá exigirse como condición de patentabilidad de la invención, así como tampoco su falta o inexactitud afectará a la validez de la patente ya concedida, pero su ausencia hubiera sido criticable si se tiene en cuenta toda la problemática surgida en los EE.UU. en el caso Moore contra el rectorado de la Universidad de California que se comenta más adelante. Ni la directiva ni las legislaciones nacionales de transposición han querido hacer del consentimiento una condición para la patentabilidad, sino sólo un instrumento eficaz para imponer de forma concreta la práctica del consentimiento libre e informado.

En la práctica, el equipo de investigación que trabaja con la muestra suele desconocer su origen, por lo que estas exigencias deberán cumplirse en el momento de realizar la toma conforme a la legislación vigente. Esto no impide que la persona que hubiera sido objeto de toma de muestras sin su consentimiento pudiese pedir responsabilidades a quienes efectuaron la extracción sin su consentimiento, pero no en el ámbito derivado del beneficio económico producido por la patente del producto realizado a partir de su muestra, puesto que la ausencia de este consentimiento no podrá ser una causa de nulidad de la patente.

Respetar el consentimiento libre e informado del sujeto fuente implica dar una información precisa, especialmente acerca de la eventualidad de una solicitud de patente. Esto significa que el sujeto debe conocer la posibilidad de que, a partir de la parte de cuerpo que dona, aunque sea información genética, cabe la posibilidad de desarrollar una patente si se llegara a desarrollar una invención que cumpliera todos los requisitos de patentabilidad. El problema es complejo, porque significa que alguien consigue un beneficio económico a través de la patente a partir o con la colaboración de un acto fundamentalmente altruista.

9.5. La propiedad de la patente del producto derivado de la muestra: la distribución de beneficios económicos

Formalmente, el titular o titulares de la patente son los que han instado la solicitud de inscripción del registro correspondiente ante la oficina de patentes. Esta titularidad da todos los derechos que otorga la concesión de la patente, de carácter patrimonial, y en principio se identifica la titularidad con la personalidad del solicitante o solicitantes.

Otro aspecto es que el inventor tiene el derecho moral de ser designado como tal inventor en la solicitud de registro de la patente, con independencia de quién sea su titular o solicitante.

La legitimación para presentar solicitudes de patentes nacionales o europeas recae sobre cualquier persona natural o jurídica y cualquier sociedad asimilada a una persona jurídica, en virtud de la legislación que le sea aplicable. Por lo tanto, pueden solicitarla el inventor (o coinventores) o sus causahabientes (en caso de fallecimiento del inventor). Si el inventor es un empleado de una empresa y la invención se realiza por el trabajador durante la vigencia de su contrato, o bien relación de trabajo o de servicios con la empresa que sean fruto de una actividad de investigación explícita o implícitamente constitutiva del objeto de su contrato, pertenecen al empresario. El trabajador autor de la invención no tendrá derecho a una remuneración suplementaria por su realización, excepto si su aportación personal a la invención y la importancia de la misma para la empresa exceden de manera evidente del contenido explícito o implícito de su contrato o relación de trabajo. Este principio aparece recogido en la Ley Española de Patentes de 1986 (artículo 15), pero se trata de un principio prácticamente aceptado en la mayoría de las legislaciones de nuestro entorno.

Si el trabajador lo es de un centro público de investigación en España, existe desde el año 2002 una normativa específica: Real Decreto 55/2002, que establece el régimen

de explotación y cesión de las invenciones realizadas en determinados entes públicos de investigación como el CSIC y el Instituto de Salud Carlos III (entre otros) por los funcionarios o por el personal contratado en régimen de derecho laboral por los mismos organismos que, asimismo, desarrollen actividades de investigación. En estos casos, corresponde a los organismos públicos de investigación la titularidad de las invenciones realizadas por el personal investigador como consecuencia de las actividades desarrolladas en el ámbito específico de sus funciones. El personal investigador que lleve a cabo cualquier invención estará obligado a comunicar inmediatamente tal circunstancia al director o presidente del organismo, una vez obtenidos los correspondientes resultados.

Asimismo, cuando se obtengan beneficios de la explotación de los derechos citados, conforme a ley corresponderá un tercio para el autor o autores de la invención y un tercio se distribuirá de acuerdo con los criterios que establezca el consejo rector del organismo, teniendo en cuenta la importancia y trascendencia de la patente, los beneficios que pueda generar y la participación o colaboración de personal distinto al autor o autores de la invención. De este modo, se persigue incentivar la investigación en los centros públicos de investigación.

El derecho de propiedad en la patente deriva del acto de invención. En el caso de las invenciones que contienen muestras biológicas, el acto de la invención corresponde a quien extraiga, purifique o manipule la muestra por algún medio que suponga actividad inventiva, y esta intervención es la que confiere el derecho a solicitar la invención.

9.6. La comercialización de las muestras

Es evidente que se pueden producir actos de disposición del propio cuerpo que, en ocasiones, incidirán o no sobre la integridad del mismo; parece que, en principio, el disponente queda excluido del beneficio económico, consecuencia de la extracomercialidad del cuerpo humano y de la negación de un genuino derecho de propiedad sobre el mismo.

Se parte del principio de que la muestra es una cosa, pero se ha de dejar establecido de forma clara que el reconocimiento de este derecho patrimonial no implica la comercialización de la muestra sin restricciones; en efecto, se podrán poner limitaciones en función de su origen humano y de la diferencia entre unas partes del cuerpo y otras. Éstas están debidamente reflejadas en el artículo 5 del Código Civil italiano, según el cual son lícitos los actos de disposición del cuerpo que no impliquen ni resulten contrarios a la ley, al orden público o a las buenas costumbres.

Todos los Estados miembros de la UE siguen el principio de que las donaciones de tejidos humanos han de ser gratuitas, según el ejemplo de la sangre. Sin embargo, el donante recibe compensaciones por las molestias causadas en la extracción del tejido (por ejemplo, gastos de viaje, etc.). A este respecto, caben dos posturas diferentes:

- 1) Quienes mantienen que por razones de justicia, cuando del tejido se derive una fuente de ganancia, el donante debería ser pagado. De este modo, mantienen que la

remuneración a los donantes podría incrementar el suministro de tejidos. Lo que sí parece cierto es que el tratamiento y la transformación de tejidos implica una serie de costes que podrían justificar su venta comercial, al igual que los derivados de la sangre. La comercialización de tejidos humanos tiene la ventaja agregada, según sus defensores, de ser una industria alentadora para invertir en áreas que producirán una mayor oferta de tejidos en el mercado. Este argumento podría ser defendible en relación con tejidos “diseñados” que requieren técnicas sofisticadas de procesos industriales.

2) La postura contraria –donación altruista–, basada en la solidaridad, es la que presenta mayores seguidores. Con esta postura se pretende evitar que el ser humano se convierta en un objeto (como fuente de órganos y tejidos), al mismo tiempo que se evita todo riesgo de explotación de las clases más desfavorecidas, ya que podrían estimar la donación de tejidos exclusivamente por razones económicas.

Esta última postura no evita que la buena disposición para donar merezca algún tipo de reconocimiento y apoyo. En efecto, se podría permitir el pago de determinados gastos, como por ejemplo lo establecido por la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida de España. Se constata cada vez más la tendencia a compensar los gastos derivados de la donación. Habría que cuidar que esta cuantía fuese, en efecto, una “compensación” y no una “remuneración”, para evitar no sobrepasar el principio de no comercialización del cuerpo humano y sus partes, además de no aminorar el principio ético de la solidaridad. Este criterio ha sido recogido por el Consejo Nacional de Ética de Francia y Alemania en su Declaración Conjunta, de 2 de octubre de 2003. En cualquier caso, se debe evitar que las organizaciones de fondos públicos y privados recurran al pago de gastos excesivos.

La solución propuesta por algunos, como el Grupo Europeo de la Ética, de circunscribir los biobancos a instituciones públicas de salud o a organismos que no persigan beneficios económicos, sino que simplemente con el precio de la entrega de los tejidos cubran los gastos que ocasione el biobanco, resulta en la práctica bastante difícil, porque las industrias farmacéuticas y biotecnológicas están realmente interesadas en este nuevo sector por los resultados que podrían obtener, e incluso los propios organismos públicos podrían estar interesados en conseguir algún tipo de beneficio económico que les permitiese proseguir sus investigaciones y financiar nuevas líneas de investigación.

Parece ser que, tal y como se encuentra el estado de cosas sobre esta materia y con el fin de conseguir un equilibrio que resulte justo entre el sujeto fuente y los terceros (compañías farmacéuticas, biotecnológicas), lo más apropiado sería tratar de conseguir el aprovechamiento compartido de los beneficios (*benefits sharing*) en lugar de una remuneración individual. En efecto, en este mismo sentido se pronuncia la Declaración Internacional sobre los Datos Genéticos Humanos de la UNESCO, en su artículo 19, al establecer que los beneficios resultantes de la utilización de datos genéticos humanos, datos proteómicos humanos o muestras biológicas obtenidas con fines de investigación médica y científica deberían ser compartidos con la sociedad, en su conjunto, y con la comunidad internacional, de conformidad con la legislación o la política interna

y con los acuerdos internacionales. Los beneficios que deriven de la aplicación de este principio podrán revestir las siguientes formas:

- Asistencia especial a las personas y grupos que hayan tomado parte en la investigación.
- Acceso a la atención médica.
- Nuevos diagnósticos, instalaciones y servicios para dispensar nuevos tratamientos o medicamentos obtenidos gracias a la investigación.
- Apoyo a los servicios de salud.
- Instalaciones y servicios destinados a reforzar las capacidades de investigación.
- Incremento y fortalecimiento de la capacidad de los países en desarrollo para obtener y tratar datos genéticos humanos, tomando en consideración sus problemas específicos.
- Cualquier otra forma compatible con los principios enunciados en esta declaración.
- Acceso preferencial a terapias desarrolladas en virtud de sus contribuciones al biobanco (éste parece ser uno de los criterios más ampliamente compartidos).
- Participación en terapias, conforme a lo establecido por el *HUGO Ethics Committee en su Statement of benefit-sharing* (2000), que demanda la inversión del 1% al 3% de los ingresos netos de la investigación en fundaciones públicas, por ejemplo, en la expansión de infraestructuras médicas o de ayuda humanitaria.

De todos modos, el derecho interno y los acuerdos internacionales podrían fijar limitaciones a este respecto. Pero, en cualquier caso, parece clara la unanimidad respecto del rechazo a la participación del sujeto fuente en los beneficios económicos derivados de la comercialización del producto obtenido a partir de su muestra biológica.

10. RECOMENDACIONES PARA LA ESTRUCTURACIÓN Y FUNCIONAMIENTO DE UN BIOBANCO

Existen diez puntos importantes a tener en cuenta que se resumen en la Tabla III.

TABLA III. Recomendaciones para la estructuración y funcionamiento de un biobanco

- 1) Es muy importante que la actividad del biobanco no interfiera en el diagnóstico, porque este último es la finalidad principal para la que el paciente, de manera habitual, dé su consentimiento
- 2) Antes de establecer un biobanco, conviene centrar su objetivo (por ejemplo, tumores infantiles, tumores de adultos, sólo carcinomas de mama)
- 3) Un biobanco es una actividad multidisciplinar que abarca todos los estamentos de un hospital/centro de investigación
- 4) Todos los protocolos técnicos deben quedar escritos. Sería recomendable que estuvieran aprobados por un comité externo. Los protocolos éticos han de estar supervisados por un CEIC
- 5) Consideramos obligatoria la obtención del consentimiento informado para almacenar, ceder e investigar sobre muestras. Recomendamos que dicho documento esté aprobado por un CEIC
- 6) En muchas ocasiones, se requiere la anonimización de las muestras para preservar la confidencialidad
- 7) Conviene poner en marcha bases de datos seguras y funcionales que estén de acuerdo con todas las normas de protección de datos de carácter personal
- 8) Conviene tener en cuenta las condiciones de bioseguridad al diseñar y poner en marcha una instalación dedicada a biobanco
- 9) El personal que trabaja en el biobanco debe tener una formación específica y apropiada
- 10) El mayor rendimiento de un banco de tumores/tejidos se alcanza en el seno de una red cooperativa



GUÍA PRÁCTICA

**para la
utilización
de muestras
biológicas en
Investigación
Biomédica**



III. GESTIÓN DE CALIDAD

1. Introducción

2. Los sistemas de gestión de calidad (SGC) aplicados a los biobancos

- 2.1. Referencias para la implantación de un SGC
- 2.2. Selección del modelo UNE-EN-ISO 9001:2000
- 2.3. Ventajas de la implantación del SGC según ISO 9001:2000

3. Implantación de un SGC según UNE-EN-ISO 9001:2000 en biobancos

- 3.1. Planificación
 - 3.1.A. Definir el alcance del SGC: qué productos/servicios se incluirán en el SGC
- 3.2. Diseño
 - 3.2.A. Procesos del biobanco
 - 3.2.B. Documentación de los procesos
 - 3.2.C. Actividades comprendidas en los procesos de gestión de ISO 9001
- 3.3. Implementación y mejora continua

4. Certificación

- 4.1. Ventajas de la certificación
- 4.2. Procedimiento de certificación

III. Gestión de calidad

1. INTRODUCCIÓN

Los biobancos en su situación actual no se pueden considerar colecciones aisladas que sirven a un reducido grupo de investigadores, sino que sirven a un sistema científico globalizado cuyas necesidades implican comparar los resultados obtenidos en grupos de investigación muy diferentes con muestras de partida de calidad diversa.

Ello ha llevado a que los biobancos compartan protocolos y establezcan controles de calidad que les garanticen que hacen las cosas bien. Este aspecto se hace más evidente cuando se integran en redes de cooperación, nacionales o internacionales, que implican compartir muestras entre diferentes biorrepositorios. Para facilitar el trabajo en red se establecen protocolos de trabajo consensuados o al menos se trata de armonizar protocolos, estableciendo unos niveles mínimos de calidad.

Pero, ¿qué modo existe de garantizar esos estándares de calidad? O mejor, ¿cómo un investigador, que tiene la opción de solicitar muestras a biobancos diferentes, puede conocer que las muestras que le van a enviar cumplen unos estándares de calidad? Y no sólo esto, sino que habitualmente los recursos con los que se trabaja, tanto de personal como de muestras y medios económicos, son limitados e incluso escasos.

Por lo tanto, la decisión de establecer un sistema de gestión de calidad viene dado por estos dos condicionantes: 1) garantizar la calidad del producto según los requisitos que se demanden (el usuario-investigador, el donante de las muestras, la sociedad o la legislación); y 2) la mejora continua en todas las actividades de la organización.

2. LOS SISTEMAS DE GESTIÓN DE CALIDAD (SGC) APLICADOS A LOS BIOBANCOS

2.1. Referencias para la implantación de un SGC

Desde el primer momento en el que se toma la decisión de implantar un sistema de gestión de calidad, se deberían tener presentes dos aspectos:

- Será una potente herramienta para mejorar la gestión.
- El objetivo será que la herramienta cumpla su misión y que la gestión mejore realmente.

Un sistema de gestión mal diseñado puede no solamente no introducir beneficios, sino que además entorpece la labor diaria. Muchas empresas han sufrido estas barreras por tener como objetivo principal la certificación, centrándose en las auditorías y olvidando sus procesos internos. Muchas otras han puesto en marcha un sistema flexible, eficaz, que actúa como un verdadero motor de la mejora, y que es el que se debe tomar como referencia.

Sin embargo, con frecuencia, la decisión de implantar un sistema de gestión de calidad suele estar relacionada con otros objetivos: conseguir la homologación de los productos o servicios por parte de un cliente (incluyendo a la administración) o aumentar la competitividad en el sector suelen ser las razones iniciales. Directamente vinculada a estos fines, se encuentra la decisión de obtener un reconocimiento final al sistema de gestión de calidad implantado, como es la certificación o la acreditación.

Tras analizar estos comentarios, deberían surgir dos cuestiones:

- ¿Qué razones llevan a implantar un sistema de calidad?
- ¿Qué referencias o modelo de gestión se necesitarían para lograr los objetivos planteados?

El siguiente esquema pretende aclarar algunos conceptos básicos, tanto en relación con las referencias más habituales para la implantación del sistema, como en el reconocimiento a obtener.

1) La norma UNE-EN-ISO 9001:2000:

- Es de aplicación a cualquier tipo de organización.
- Proporciona un modelo de gestión de calidad. Su implantación es un medio para demostrar que se proporcionan de forma coherente productos que satisfacen los requisitos del cliente y los reglamentarios aplicables.
- El reconocimiento a este modelo de gestión es la certificación, que se obtendrá por parte de las empresas registradoras (certificadoras) que son autorizadas por la Entidad Nacional de Acreditación y Certificación (ENAC) para llevar a cabo esta actividad.

2) La norma UNE-EN-ISO/IEC 17025:

- Es de aplicación a los laboratorios de ensayo y calibración.
- Basada en el esquema de la norma ISO 9001, es el medio para garantizar la competencia técnica de las actividades de ensayo y/o calibración. El cumplimiento de los requisitos de esta norma implica el cumplimiento de los requisitos de la norma ISO 9001, pero no viceversa. Da por tanto un paso más que la anterior para el caso de los laboratorios.
- El reconocimiento a esta norma es la acreditación, que se obtiene por parte de la ENAC.

3) La norma UNE-EN-ISO 15189:

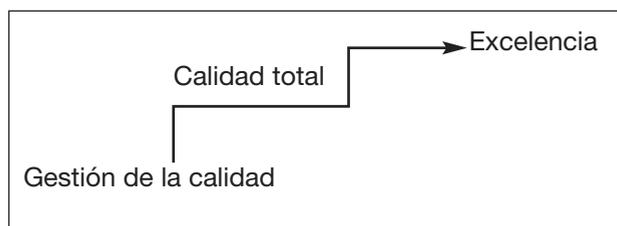
- Paralelamente a la anterior, es de aplicación a los laboratorios de análisis clínicos.

- Proporciona los requisitos particulares relativos a la competencia y la calidad de los análisis que son desarrollados con el fin de proporcionar información para el diagnóstico, la prevención o el tratamiento de enfermedades en los seres humanos. Al igual que ISO/IEC 17025, este sistema implica el cumplimiento del modelo ISO 9001.
- El sistema implantado según esta norma es acreditado por la ENAC.

La gestión de la innovación cuenta también con un referente normativo, la norma **UNE 166.002:EX**:

- Asiste a las organizaciones en la gestión de sus actividades de I+D+I.
- Es una norma compatible con ISO 9001, y se puede considerar que da un paso más al facilitar, como beneficio añadido a la anterior, la implantación de un sistema normalizado para la gestión de la investigación, desarrollo e innovación de productos y procesos.
- Al igual que ISO 9001, es certificable, a efectos de poder garantizar a las partes externas, el cumplimiento de sus requisitos.

Otra referencia que se encuentra con frecuencia es el Modelo Europeo de Excelencia de la EFQM (*European Foundation Quality Management*). Ésta, sin embargo, no es una herramienta operativa para la gestión como tal, sino un modelo de autoevaluación que permite a la empresa situarse en el camino hacia la calidad total, permitiendo el establecimiento de planes de mejora basados en hechos objetivos. Da un paso más allá que las anteriores en el camino hacia la excelencia.



En esta misma línea se encuentra el modelo proporcionado por la norma **UNE-EN-ISO 9004:2000**,

que se ha desarrollado pensando en ser el siguiente paso a la implantación de la norma 9001, tal y como su propio título indica: “Directrices para la mejora del desempeño”.

Conocer y analizar las diferentes opciones que tiene la organización, como punto de partida y como paso previo a la toma de decisiones, se debe considerar una etapa importante de la planificación estratégica, en la medida en que esta decisión marca el camino que se debe seguir y, por tanto, los objetivos que se desea alcanzar.

2.2. Selección del modelo UNE-EN-ISO 9001:2000

Las razones por las que se propone aplicar el modelo de gestión recogido en la norma UNE-EN-ISO 9001:2000 se deducen de lo expuesto en el apartado anterior, basándose en las siguientes conclusiones:

- Proporciona un modelo flexible y adaptable a organizaciones que proporcionan tanto productos físicos como servicios.

- Es un modelo fácilmente escalable, que permite incorporar desde los requisitos de los usuarios, hasta los requisitos del resto de las partes interesadas.
- Es el punto de partida para la implantación de otros sistemas que, persiguiendo objetivos diferentes, se basan en este mismo esquema.

La experiencia y la madurez de un sistema de calidad según ISO 9001 facilitará el crecimiento hacia objetivos posteriores, como la garantía de la competencia técnica según ISO/IEC 17025 (cuando aplique la realización de ensayos) o la gestión de la investigación (cuando aplique la participación en proyectos).

2.3. Ventajas de la implantación del SGC según ISO 9001:2000

Un biobanco, al igual que cualquier otra organización, depende de sus clientes (en este caso investigadores) y, por lo tanto, debería esforzarse en entender las necesidades actuales y futuras de estos clientes (y de otras partes interesadas: promotores, la sociedad en su conjunto...) e intentar satisfacer sus requisitos. Un SGC, según la norma ISO 9001:2000, lleva a una organización a determinar los requisitos de los clientes e incorporarlos a la actividad normal de la organización, centrándose así en la búsqueda de la satisfacción del cliente. Esto, además de derivar en un aumento de la fidelidad del cliente, y por tanto en la reiteración de tratos comerciales con él, conlleva un aumento de la eficacia en el uso de los recursos de la organización.

Para una buena implantación del SGC, es clave la implicación de todo el personal del biobanco, desde la dirección hasta los técnicos de laboratorio, esto conduce a una mayor motivación del personal respecto a las metas establecidas por la dirección, lo que se traduce en un mayor aprovechamiento de las habilidades del personal en beneficio de la organización y una mayor responsabilidad en el desempeño de sus funciones.

La norma también promueve una orientación hacia la gestión de los procesos. Un mejor resultado en la organización se consigue cuando las actividades desarrolladas por el biobanco y los recursos necesarios para ello se gestionan como un proceso; es decir, cuando existe una interacción de todas las actividades. Entender la organización como un conjunto ayuda a reducir costes y tiempo en la realización de las actividades y a mejorar los resultados deseados por la organización.

Por otra parte, una buena implantación del sistema obliga a hacer un seguimiento y una medición de los resultados obtenidos basándose en los requisitos establecidos en la organización, no sólo los requisitos del cliente, sino también los requisitos legales y reglamentarios que le sean de aplicación. Esta revisión del sistema llevará a detectar las áreas de mejora y a implantar acciones eficaces para evitar la reaparición de no conformidades (diferencias entre los requisitos establecidos y los resultados obtenidos). Todo esto conduce, sin lugar a dudas, a una mejora continua del sistema. Es decir, ayuda a mejorar la eficacia en todos los aspectos de la gestión.

3. IMPLANTACIÓN DE UN SGC SEGÚN UNE-EN-ISO 9001:2000 EN BIOBANCOS

El biobanco que decida implantar la norma UNE-EN-ISO 9001:2000 debe tener claro que el objetivo prioritario no es conseguir la certificación, sino que se deben plantear objetivos más ambiciosos, como puede ser perseguir un cambio real en la gestión del biobanco, establecer un plan realmente eficaz de mejora continua, dar capacidad de decisión al personal, eliminar errores (lo que lleva a una reducción de costes) y “educar” a todo el personal en temas de calidad. Todos estos cambios deben ir enfocados a conseguir la mejora continua de la organización. La certificación, si se considera necesaria, debe ser el reconocimiento al hecho de haber alcanzado esta mejora de la organización.

Para lograr todo esto, uno de los planteamientos previos que debe hacerse la dirección del biobanco es decidir quién va a ser la persona responsable de coordinar el desarrollo y la implantación del SGC. En este sentido podrían darse dos casos:

- Que el proceso lo coordine una persona perteneciente a la organización. Para ello será necesario que tenga un gran conocimiento de la norma ISO 9001:2000, por lo que se deberá facilitar la formación necesaria en caso necesario.
- Acudir a un profesional externo, es decir, contratar los servicios de un consultor.

La selección de un consultor adecuado es muy importante para asegurar que el SGC es eficaz; es decir, que con el SGC implantado se cumplirán los objetivos planificados en el biobanco. La elección de un consultor no excluye que se impliquen totalmente la dirección y el resto del personal en la implantación del SGC, ya que éste es un factor imprescindible en cualquier caso. Debe ser un consultor que tenga experiencia en el desarrollo y la implantación de sistemas de calidad en el campo de la investigación y, además, el biobanco debe nombrar a un miembro de la organización, que conozca perfectamente el funcionamiento de la misma, para que colabore estrechamente con el consultor.

Recientemente, se ha aprobado una norma que puede resultar de utilidad para decidirse a la hora de contratar los servicios de un consultor, la norma UNE-EN-ISO 10019:2005: “Directrices para la selección de consultores de sistemas de gestión de calidad y utilización de sus servicios”. Esta norma proporciona una guía sobre el proceso para evaluar la competencia comprobada de un consultor.

Otro punto a tener en cuenta, antes de implantar el SGC, es que la dirección debe implicarse totalmente en el desarrollo del sistema e involucrar a todo el personal de la organización. Además, la dirección debe estar dispuesta a facilitar todos los recursos necesarios, técnicos y humanos, tener una visión clara del futuro de la organización y establecer unos objetivos de calidad desafiantes.

Una vez analizado lo anterior, la dirección del biobanco debe valorar el coste que puede suponer a la organización implantar el SGC y certificarse. No sólo el coste de las ta-

rifas del consultor y de las auditorías que realizará la empresa que emita el certificado, sino también el coste que supone incorporar los recursos necesarios para implantar el sistema.

Además, se debe entender el biobanco como un **proceso** (un conjunto de actividades relacionadas entre sí) e identificar las actividades que sean claves en el cumplimiento de los objetivos establecidos en la organización. Este enfoque implica ciertos cambios en la estructura organizativa, no se trata de modificar la estructura existente en el biobanco, sino de empezar a adoptar una estructura de enfoque horizontal en la que las responsabilidades se asignan a todos los niveles.

Un requisito de la norma ISO 9001:2000 es, como ya se ha comentado anteriormente, la incorporación, como mínimo, de los requisitos del cliente y los legales/reglamentarios. En el caso de los biobancos es interesante incorporar al SGC los requisitos de otras partes interesadas, por ejemplo, para un biobanco es tan interesante medir la satisfacción de los colaboradores que envían las muestras como la de los investigadores que las solicitan. Se debe asegurar e incrementar la satisfacción de ambos para lograr realmente una mejora del desempeño. Otra parte interesada que podría incorporarse al SGC es la sociedad en su conjunto.

3.1. Planificación

La dirección del biobanco debe nombrar a un “gestor o responsable de calidad” que pertenezca a la organización y que dependa directamente de la dirección, el cual preferiblemente será una persona que conozca muy bien todas las áreas y que tenga autoridad y reconocimiento. En el caso de que el biobanco haya contratado los servicios de un consultor externo, el gestor de calidad colaborará estrechamente con él en el desarrollo del SGC. Será una persona clave para el desarrollo y la implantación del SGC, debiendo ser un interlocutor de la dirección con el resto del personal de la organización y, además, deberá asegurarse de que se establecen, implementan y mantienen los procesos necesarios para el SGC y el cumplimiento de los requisitos del cliente y otras partes interesadas en todos los niveles de la organización.

Se debe realizar un estudio de la situación real de la organización con respecto a los requisitos de la norma ISO 9001:2000 con el fin de valorar qué requisitos cumple ya la organización y cuáles no.

Se establecerá la política de calidad y los objetivos de calidad de la organización, que deben ser medibles y alcanzables. La política de calidad es un documento en el que se recoge el compromiso de la dirección con el SGC y se establecen las directrices de la organización que aseguran el cumplimiento de los requisitos establecidos.

3.1.A. Definir el alcance del SGC: qué productos/servicios se incluirán en el SGC

1) Estudiar las exclusiones de la norma (apartados del punto 7 que no son de aplicación, al no formar parte de los procesos necesarios para el alcance definido). Debido a la dificultad que encuentran algunas organizaciones para el estudio de las exclu-

siones, existen algunos documentos de la propia organización ISO que orientan en este sentido.

Importante: se excluyen a lo largo de todo este capítulo los desarrollos que corresponderían al cumplimiento del requisito 7.3. Diseño y Desarrollo, al considerar un biobanco tipo en el que no se proporcionan productos o servicios bajo requisitos particulares del usuario.

2) Identificar los procesos necesarios para la realización del producto o la prestación de servicio, no sólo los procesos clave en la realización del producto, sino también los procesos necesarios para las actividades de gestión de la organización, la provisión de los recursos y las mediciones del SGC. Además de identificarlos, deberá establecerse la secuencia e interacción entre los distintos procesos y designar un responsable para cada uno de ellos. Es frecuente que éstos se clasifiquen en función de la influencia en estratégicos, claves y de soporte (otras clasificaciones son igualmente válidas).

3) Determinar la estructura de la documentación que formará parte del SGC. Es necesario, pero no suficiente, que existan al menos los documentos pedidos por la norma. Un “procedimiento documentado” significa que el procedimiento esté establecido, documentado, implementado y mantenido. La estructura habitual de la documentación que forma parte del SGC viene definida en el punto siguiente (apartado 3.2).

3.2. Diseño

Diseñar el sistema de calidad implica, principalmente, establecer los requisitos, definir la forma de llevar a cabo las actividades y asignar las responsabilidades para cada uno de los procesos. La elaboración de la documentación irá asociada a esta fase, sirviendo como ayuda para asentar y comunicar, tanto al propio personal como a las partes externas, todo lo establecido.

No existe una forma única para diseñar el SGC. Cada organización puede y debe encontrar su propia forma de gestión. En relación con los ejemplos e indicaciones expuestos a continuación, cada biobanco, en función de su organización, del tipo de muestras y de la información que reciba, del tratamiento (procesamiento) que haga de ellas y de los diferentes productos y servicios que proporcione a sus clientes, deberá adaptar estas indicaciones a sus propias peculiaridades.

3.2.A. Procesos del biobanco

Para estructurar los procesos es necesario tener claros unos conceptos básicos que ayudarán a identificarlos y a establecer la secuencia y la interacción, entre ellos:

- Todo proceso, por su definición, requiere unos elementos de entrada (*input*, que incluyen los recursos), la generación de un valor añadido a esas entradas y, como resultado, unos elementos de salida (*output*).

Los elementos de entrada de un proceso son generalmente las salidas de otro diferente, lo que permitirá establecer la interacción entre los diferentes procesos y su secuencia. Por ejemplo: la salida de un proceso de control de equipos serán los propios equipos calibrados, lo cual será requisito (y por tanto elemento de entrada) para un proceso de medición.

Los procesos clave son aquellos directamente relacionados con la misión del biobanco, fundamentalmente la producción, la gestión de los productos, así como la información y el servicio a los clientes. Además, hay otra serie de procesos que, sin ser claves, son igualmente necesarios para definir las directrices de gestión (estratégicos) o ejercen de base o asiento para otros (soporte).

Para la mejor comprensión de los procesos existentes y su interacción, se suelen elaborar mapas de procesos que representen gráficamente ambos aspectos. En la Figura 1 se va a definir un sencillo ejemplo que reúne los procesos que son requisito de la norma ISO 9001:2000 y todos aquellos otros procesos que se han identificado en el funcionamiento de un biobanco tipo.

Dentro de cada proceso se podrán definir tantos subprocesos como sean necesarios en función de la organización del biobanco. Más adelante, en el apartado 3.2.C se describirán en líneas generales las actividades comprendidas en cada uno de estos procesos.

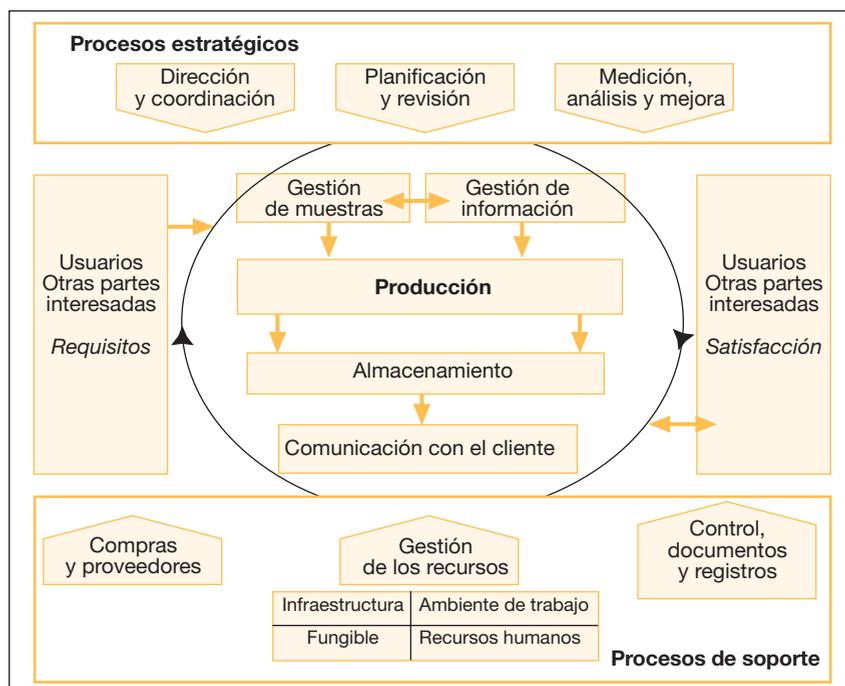


Figura 1. Procesos del sistema de gestión de calidad.

Una vez identificados los procesos, llevar a cabo su gestión implica establecer:

- Controles para la operación y la evaluación del correcto desarrollo de la actividad.
- **Registros** necesarios para demostrar la conformidad con los requisitos.
- Indicadores de su eficacia, con objeto de evaluar el proceso para poder mejorarlo.
- Un responsable o propietario del proceso, que deberá asegurar que se consiguieren los resultados esperados.

3.2.B. Documentación de los procesos

Como parte del establecimiento de los controles, los procesos serán documentados en procedimientos que describan cómo llevar a cabo las actividades. Por ejemplo, un protocolo que indique cómo se extrae el ADN sería uno de los documentos del proceso de producción. Pero la norma ISO 9001:2000 no establece que todos los procesos se deban documentar, sino que será la propia organización la que determine cuáles estarán documentados y de qué forma, en función de factores como la complejidad de las actividades, su influencia sobre la calidad del producto o servicio, la cualificación del personal responsable de llevarlo a cabo, etc.

B.1. Requisitos de la documentación

La documentación de los procesos se puede hacer de diversas formas (diagramas de flujo, gráficos, instrucciones escritas...) o en distintos medios (audiovisual, papel, formato electrónico...); pero toda la documentación relativa a cada proceso deberá, independientemente del formato y el medio, cumplir unos requerimientos de:

- **Claridad:** los documentos tienen que ser concisos, perfectamente comprensibles por todas las personas que tengan que utilizarlos y sin ambigüedades, para asegurar que un proceso se realiza de la misma manera, independientemente del operador o del día de realización.
- **Organización:** toda la documentación tiene que estar perfectamente localizada y controlada por el gestor de calidad, quien conocerá la última versión de cada uno y el número de copias existentes, para evitar la utilización de documentos antiguos que son posteriormente revisados para mejorar la eficacia del proceso.

B.2. Estructuración de la documentación

Además, toda la documentación relativa al SGC del biobanco estará estructurada para facilitar su consulta y revisión.

La estructura habitual de la documentación de un SGC es:

1) Manual de calidad (MC): es el documento referencial del SGC del biobanco y tiene que incluir, como mínimo, el alcance y las exclusiones, los procesos e interrelación de los mismos, así como los procedimientos o referencia a los mismos del SGC. Debería también incluir, aunque no es requisito de la norma, un organigrama con los diferentes departamentos/unidades y puestos/personal del biobanco. Normalmente se in-

cluye, además, otra información, y se presenta como el documento que describe en líneas generales todo el sistema de gestión. La norma ISO 10013 se puede usar como guía para la elaboración del Manual de Calidad.

2) Procedimientos: son documentos que definen claramente cómo se llevan a cabo las actividades. Se suelen denominar procedimientos generales (PG) si describen un proceso de gestión o parte del mismo, y procedimientos específicos (PE) o procedimientos normalizados de trabajo (PNT), si describen actividades técnicas u operativas.

La documentación de cada procedimiento se realiza con una estructura típica que consta de los siguientes epígrafes:

- **Objeto:** describe la finalidad del documento.
- **Alcance:** describe el ámbito de aplicación, así como las personas o partes de la organización implicadas.
- **Términos y definiciones:** describe aquellos términos confusos o que tengan una acepción especial en el procedimiento.
- **Desarrollo:** describe, paso a paso, las diferentes etapas para realizar la actividad y cumplir con el objetivo; asigna los responsables de su ejecución; en el caso de tratarse de un PE, describe el material y los equipos necesarios para realizarlo; asimismo, establece los parámetros de control con los criterios de aceptación o rechazo.
- **Responsabilidades:** recogerá las responsabilidades de los miembros del biobanco que intervienen en el procedimiento en función de su puesto y actividad.
- **Registros:** identifica los registros generados por el procedimiento.
- **Documentos de referencia:** enumeración de la normativa, artículos, libros, etc., utilizados para la elaboración del procedimiento y/o a los que dirigirse en caso de consulta. También se citan los documentos del SGC (MC, PG...) con los que se vincula directamente ese procedimiento.

3) Instrucciones técnicas (IT): son documentos complementarios a los procedimientos que especifican de forma más detallada una determinada actividad (el manejo de un equipo, la realización de un análisis o cálculo concreto, etc.). Habitualmente, no siguen un modelo de redacción ni de estructuración particular.

4) Formatos (FO): son documentos del SGC, con una forma y diseño particulares, que se utilizan como base para tomar los registros que se generan en un proceso concreto. Este formato aplicado a cualquier documento, al ser cumplimentado, genera un registro, independientemente del soporte en el que se encuentre (hojas, formularios informáticos, etc.).

5) Bases de datos: tienen una utilidad clara como medio para gestionar la información. Se debe asegurar que están debidamente validadas y que cumplen la legislación aplicable en relación con la seguridad y la accesibilidad.

La documentación puede ser también de origen externo, por ejemplo las instrucciones de manejo de equipos proporcionadas por los fabricantes, en cuyo caso se incorpora al SGC sin necesidad de elaborar un documento interno.

Los procedimientos que la norma ISO 9001:2000 exige expresamente que estén documentados son seis:

1) Control de documentos: definir las acciones necesarias para la aprobación, revisión y actualización de los documentos. Controlar la disponibilidad de las últimas versiones, su perfecto estado, la identificación y la distribución, así como la identificación en el SGC y la distribución de documentos de origen externo.

2) Control de registros: definir las acciones necesarias para identificar, almacenar y proteger correctamente los registros, con el fin de permitir su recuperación durante el tiempo establecido y su consulta por el personal autorizado.

3) Auditorías internas: establecer responsabilidades y requisitos para la planificación y la realización de auditorías, con el fin de informar de los resultados y mantener los registros.

4) Control de producto no conforme: establecer los controles, las responsabilidades y las autoridades relacionadas con el tratamiento del producto no conforme.

5) Acciones correctivas: actuar para eliminar la causa de no conformidades y prevenir que vuelvan a ocurrir; registrar los resultados de las acciones tomadas y evaluar su eficacia.

6) Acciones preventivas: determinar acciones para eliminar las causas de posibles no conformidades y para prevenir que ocurran; registrar los resultados de las acciones tomadas y evaluar su eficacia.

Estos seis procedimientos no tienen por qué ser seis documentos, sino que se pueden agrupar o estructurar de forma diferente. Además de estos procedimientos, se deben documentar todos los que sean necesarios para la correcta operación y control de los procesos.

3.2.C. Actividades comprendidas en los procesos de gestión de ISO 9001

Como enfoque práctico y brevemente debido a la limitación de espacio y a los objetivos de esta guía, se desarrollarán los posibles procesos de un biobanco siguiendo la propuesta recogida en el mapa de procesos y el esquema de la norma ISO 9001:2000, la cual agrupa sus procesos en cinco epígrafes:

- 1) Procesos del sistema de gestión de calidad.
- 2) Procesos de dirección.
- 3) Procesos de gestión de los recursos.
- 4) Proceso de realización del producto.
- 5) Procesos de medición, análisis y mejora.

El desarrollo completo de cada proceso, con la descripción exacta de las actividades que incluye, se obtiene al comprender y analizar los requisitos de la norma en comparación con las actividades del biobanco.

C.1. Procesos del sistema de gestión de calidad

Establece los requisitos generales del sistema de gestión. No son de aplicación directa, como tal, pero recogen el resultado que se debe lograr al haber implementado el resto de los requisitos.

Recoge también los requisitos para el control de la documentación y los registros. En el caso de un biobanco, debido al tipo de información manejada, puede ser necesario considerar especialmente la confidencialidad de los registros, definiendo distintos niveles de confidencialidad y asignando diferentes controles a cada nivel.

C.2. Procesos de dirección

Se incluirán todas las actividades realizadas por la dirección que impliquen el compromiso de la dirección con la implementación del SGC y su eficacia, con especial atención a establecer los requisitos del cliente y la política de calidad del biobanco.

1) Dirección y coordinación: actividades encaminadas a establecer comunicación (convenios y colaboraciones) con los centros asociados que envían muestras biológicas. Se pueden considerar también, en este proceso, la coordinación y la comunicación interna.

2) Planificación y revisión: actividades de planificación y de revisión de los diferentes procesos del SGC para asegurar los objetivos de calidad.

C.3. Procesos de gestión de los recursos

1) Material fungible: mantiene un control, con un registro asociado, del material de laboratorio esencial para realizar el producto; como mínimo en relación con la cantidad y las fechas de caducidad.

2) Gestión de los recursos humanos: establece las necesidades de competencia, habilidades y experiencia necesarias para cada puesto según la función que se va a desempeñar; establece las necesidades de formación específica y evaluar su eficacia en función de los resultados.

3) Control de las infraestructuras: determina, proporciona y mantiene las infraestructuras y equipos necesarios para lograr los objetivos.

4) Ambiente de trabajo: determina y controla las medidas necesarias bajo las cuales se debe realizar el trabajo (factores ambientales y de seguridad, principalmente).

C.4. Procesos de realización del producto

Incluye todas las actividades necesarias para la realización del producto. La determinación de los procesos y subprocesos de producción va a depender, en gran me-

dida, de las muestras que reciba y almacene cada biobanco, así como del procesamiento al que se sometan esas muestras. Por ello, alguno de los procesos que se describen a continuación puede no ser de aplicación, o bien puede ser necesario incluir otros:

1) Gestión de las muestras e información: debe incluir parámetros de control para verificar que las muestras reúnen los requisitos adecuados para entrar en el proceso de producción. Se establecerán los registros con los niveles de seguridad apropiados y se garantizará la trazabilidad de las mismas durante todo el proceso.

2) Planificación de la realización del producto: establece los objetivos de calidad y los requisitos del producto, así como la secuencia de los subprocesos del proceso de producción, los criterios de aceptación del producto y las actividades de control necesarias para verificarlo.

3) Determinación de los requisitos del producto relacionados con el cliente: establece una adecuada comunicación con los investigadores para conocer los requisitos del producto, las condiciones de entrega y todos los requisitos legales y reglamentarios que sean de aplicación al producto. Establece, asimismo, los cauces adecuados para gestionar las observaciones, quejas y reclamaciones de los investigadores sobre los servicios suministrados para poder mejorarlos.

4) Diseño y desarrollo: será de aplicación cuando haya requisitos que afecten a las características de los productos y servicios ofrecidos, debiendo ser modificados los procesos.

5) Control de las compras y proveedores: establece y controla el procedimiento de compras y de control del gasto. Asegura que todos los productos adquiridos cumplen los requisitos solicitados. Selecciona y evalúa a los proveedores en función de su capacidad para suministrar productos.

6) Producción: determina todo el proceso de producción con los diferentes subprocesos, estableciendo en cada caso los controles necesarios para evaluar la conformidad de los subproductos. Valida los procesos de producción, dejando los registros correspondientes que demuestren que dichos procesos son conformes con los parámetros o con las características que previamente se han determinado. Establece los mecanismos y los registros para asegurar la identificación y la trazabilidad.

7) Preservación del producto: es un proceso clave en un biobanco y, como tal, tiene que garantizar la validación de todos los sistemas de almacenamiento, estableciendo parámetros de control y registros que garanticen el correcto almacenamiento y la trazabilidad de todas las muestras, productos y subproductos almacenados.

8) Control de dispositivos de seguimiento y de medición: determina los requisitos de los equipos de seguimiento y de medición en función de su importancia en la conformidad del producto. Para asegurar su validez se deben determinar y llevar a cabo las actividades de calibración y ajuste necesarias. Identifica el estado de calibración de

los equipos y controla los fallos que un mal ajuste o calibración puede ocasionar en la producción o preservación de los productos.

C.5. Procesos de medición, análisis y mejora

Estos procesos tienen que ser capaces de demostrar la conformidad del producto con los objetivos de calidad definidos, asegurar la conformidad del SGC y lograr su mejora para asegurar una mayor eficacia del funcionamiento del biobanco.

1) Seguimiento y medición: su función es obtener y analizar la satisfacción del cliente en relación con los productos y servicios; planificar y desarrollar, de forma periódica, auditorías internas para asegurar la implementación y mejora de la eficacia del SGC; llevar a cabo la medición de los procesos para asegurar que se alcanzan los resultados planificados y verificar que se cumplen los requisitos del producto.

2) Control del producto no conforme: establece los métodos de identificación y de control de los productos no conformes para prevenir su uso o entrega no intencional.

3) Análisis de datos: determina, recopila y analiza los datos de los registros para evaluar la satisfacción de los investigadores y los proveedores, la conformidad del producto y las características y tendencias de los procesos y productos.

4) Mejora: establece las acciones correctivas y preventivas para eliminar las causas de no conformidad o prevenir su aparición.

3.3. Implementación y mejora continua

Se puede implementar el SGC una vez diseñados todos los procesos, o hacerlo de forma secuencial. Una buena forma puede ser establecer reuniones tras la aprobación de los documentos, para dar a conocer los procesos a todo el personal, y fijar un plazo para su puesta en marcha.

Se puede considerar que el sistema está implementado cuando se ha completado un ciclo completo: hay registros de todos los procesos, se ha hecho una auditoría interna y la revisión del sistema por la dirección, y se han tomado acciones correctivas y preventivas para la mejora.

4. CERTIFICACIÓN

4.1. Ventajas de la certificación

Una organización puede tener implantado un SGC y no estar certificada. En una sociedad tan competitiva el hecho de estar certificado según un SGC potencia la imagen que tiene el cliente acerca de la organización y la ayuda a diferenciarse de la competencia.

Que una organización esté certificada según la norma ISO 9001:2000 significa que el SGC que ha implantado ha sido evaluado por una tercera parte independiente (acreditada por la ENAC) y demuestra la capacidad de la organización de producir o prestar un servicio de una forma constante y conforme a los requisitos definidos en normas o especificaciones técnicas de la organización. Por eso es muy importante que los requisitos vayan dirigidos a satisfacer las necesidades de sus clientes (y de otras partes interesadas) y haya unos objetivos de calidad bien definidos que lleven a la dirección a mejorar continuamente su sistema de calidad.

Una vez que la organización ha obtenido la certificación, está en cierta medida obligada a mantener actualizado el SGC mediante el análisis, la medición y la mejora del sistema implantado. Estar certificado ofrece confianza al cliente en cuanto a que la organización está obligada a incorporar mejoras para alcanzar modelos de gestión más eficaces.

4.2. Procedimiento de certificación

Antes de pedir la certificación, el SGC estará implantado en la organización en su totalidad durante el tiempo necesario para poder valorar suficientemente la funcionalidad del sistema y detectar posibles no conformidades con los requisitos de la norma, del producto o servicio, de la propia organización, y con los requisitos legales y reglamentarios.

Independientemente de que cada empresa certificadora tenga unos métodos propios de trabajo, los pasos que se deben seguir para obtener la certificación son generalmente:

- La empresa que certifique la organización debe ser una empresa acreditada por la ENAC para llevar a cabo la evaluación de la conformidad en el sector que corresponda (se puede consultar el listado de empresas acreditadas en la página web de la ENAC: www.enac.es) y enviar una solicitud de certificación.
- La empresa certificadora analizará la documentación de la organización, bien en la propia organización, bien en las oficinas de la empresa certificadora.
- La empresa certificadora concertará una visita a la organización con el fin de comprobar *in situ* el cumplimiento, implantación y adecuación del SGC de la organización. En esta visita puede pedir información adicional.
- La empresa certificadora, después de comprobar el cumplimiento de los requisitos, emitirá un “informe de auditoría” en el que aparecerán las no conformidades encontradas (si las hubiese) y unas recomendaciones para resolverlas.
- La organización tendrá un plazo establecido por la empresa certificadora (aproximadamente un mes) para presentar un plan de acciones correctivas donde se expliquen las acciones que se pretende realizar para subsanar las no conformidades detectadas.
- La empresa certificadora revisará la implementación de las acciones de mejora y, si todo es correcto, hará el “cierre de no conformidades”.
- La empresa certificadora emitirá el certificado de conformidad con la norma.

Una vez conseguida la certificación, la organización debe elaborar un calendario y un plan de acción anual con el fin de mantener y mejorar el SGC.



GUÍA PRÁCTICA

**para la
utilización
de muestras
biológicas en
Investigación
Biomédica**



IV. GESTIÓN DE BASES DE DATOS

- 1. La creación de ficheros y su notificación**
- 2. El responsable y el encargado del tratamiento**
- 3. Las medidas de seguridad**

IV. Gestión de bases de datos

1. LA CREACIÓN DE FICHEROS Y SU NOTIFICACIÓN

La creación de ficheros con datos de carácter personal debe ir acompañada de una notificación formal para su inscripción en el Registro General de Protección de Datos (RGPD) incardinado en la Agencia Española de Protección de Datos (AEPD).

El objeto de este registro es que cualquier persona pueda conocer la existencia de tratamientos de datos personales, sus finalidades, y la identidad y dirección del responsable de dichos tratamientos, lo que facilita que se puedan ejercer los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición reconocidos en la normativa vigente.

Teniendo en cuenta este objeto del registro, la notificación tiene una naturaleza meramente declarativa y su inscripción no supone ningún tipo de autorización del fichero –que es innecesaria– ni la acreditación de que su funcionamiento real y efectivo cumpla con la normativa de protección de datos personales.

La notificación tampoco lleva aparejada la comunicación al registro de los datos personales incorporados en el fichero que se pretende inscribir, sino que se limita a declarar la existencia del fichero, con indicación de su responsable, la finalidad, la ubicación, el nivel de medidas de seguridad exigible –sin detallar el contenido de las mismas– y las cesiones de datos que se prevean, así como las transferencias de datos a terceros países que se vayan a producir, sin considerar terceros países a los Estados miembros de la Unión Europea ni a los que conforman el Espacio Económico Europeo.

Sin embargo, los requisitos para la creación de ficheros son distintos según los mismos sean de titularidad pública o privada. En el primer caso, la creación, la modificación o la supresión del fichero sólo se puede hacer mediante una disposición general previamente publicada en el *Boletín Oficial del Estado* o en el correspondiente diario oficial.

Las disposiciones de creación o modificación de los ficheros deben indicar su finalidad y usos previstos, las personas o colectivos de los que se pretende obtener datos personales o que estén obligados a suministrarlos, el procedimiento de recogida de los

datos, la estructura básica del fichero y los tipos de datos incluidos en el mismo, las cesiones o, en su caso, las transferencias que se prevean realizar a terceros países, los órganos de la Administración responsables del mismo, los servicios o unidades ante los que se pueden ejercer los derechos de acceso, rectificación o cancelación y oposición, así como la indicación del nivel de medidas de seguridad.

Por su parte, en las disposiciones de supresión de los ficheros se ha de establecer el destino de la información o, en su caso, las previsiones que se adopten para su destrucción.

En las comunidades autónomas en las que se haya creado una Autoridad de Protección de Datos y se haya previsto la existencia de registros de ficheros, será también necesario notificar para su inscripción los ficheros sobre los que tengan competencia. Así sucede en el caso de la Agencia de Protección de Datos de la Comunidad de Madrid, la Agencia Catalana de Protección de Datos y la Agencia Vasca de Protección de Datos. Entre ellas y la Agencia Española se están desarrollando procedimientos de colaboración que faciliten el cumplimiento de la obligación de notificar los ficheros en ambos registros.

En el caso de ficheros de titularidad privada su creación no precisa de una disposición previa de carácter general, aunque sí resulta exigible la notificación al RGPD de su inscripción.

Con independencia de la titularidad pública o privada de los ficheros, la notificación al Registro General de Protección de Datos de la AEPD se ha de realizar conforme a los modelos oficiales publicados en la página web de la Agencia: www.agpd.es.

Cuando sea necesario notificar un fichero de titularidad pública al registro de ficheros de una agencia autonómica, también se encuentran disponibles los modelos correspondientes en las páginas web de cada agencia.

Se debe resaltar que la obligación de notificar los ficheros para su inscripción es de naturaleza dinámica, de forma que la inscripción debe encontrarse actualizada en todo momento. De ahí que sea preciso notificar las modificaciones que se vayan produciendo, así como la supresión de los ficheros en el caso de que la misma tenga lugar.

2. EL RESPONSABLE Y EL ENCARGADO DEL TRATAMIENTO

La normativa de protección de datos distingue varias figuras, como son el responsable del fichero o del tratamiento y el encargado del tratamiento.

El primero de ellos es la persona física o jurídica, de naturaleza pública o privada, o el órgano administrativo que decide sobre la finalidad, el contenido y el uso de los datos personales. Siempre que concurren estas circunstancias será responsable, incluso

aunque materialmente no sea el que trata la información. A él le corresponde la obligación de notificar.

El encargado del tratamiento es la persona física o jurídica, la autoridad pública, el servicio o cualquier otro organismo que, sólo o conjuntamente con otros, trata datos personales por cuenta del responsable al que se refiere el párrafo anterior, para la prestación de un servicio al mismo.

Esta figura del encargado del tratamiento, que puede prestar todo tipo de servicios, es particularmente importante en un momento en que, por las más diversas razones, es muy habitual la externalización de servicios.

La Ley Orgánica de Protección de Datos (LOPD) permite que el encargado del tratamiento pueda acceder a los datos personales para la prestación de servicios, sin necesidad de contar con el consentimiento de los afectados.

Pero esta posibilidad sólo podrá materializarse lícitamente si se cumplen las garantías exigidas por la Ley.

En este sentido, la Ley exige que la prestación de servicios esté regulada en un contrato que debe constar por escrito, de forma que se pueda acreditar su celebración y contenido.

En el contrato se deberá establecer, expresamente, que el encargado del tratamiento únicamente tratará los datos conforme a las instrucciones del responsable, que no los aplicará o utilizará con un fin distinto al que figure en el contrato y que no los comunicará, ni siquiera para su conservación, a otras personas.

Asimismo, en el contrato se deben estipular las medidas de seguridad exigibles, las cuales deberán ser implementadas por el encargado de tratamiento.

La prestación de servicios puede ser temporal o preverse con carácter indefinido pero, al término de la misma, los datos personales deben ser destruidos o devueltos al responsable, al igual que cualquier soporte o documento donde conste algún dato personal.

De preverse o producirse por parte del prestador del servicio una subcontratación que implique el tratamiento de datos personales, deberá reflejarse en el contrato haciendo constar, expresamente, además de los requisitos antes expuestos, que el contratista actúa en nombre y por cuenta del responsable o, alternativamente, se han de especificar en el contrato los siguientes requisitos acumulativos:

- Que los servicios subcontratados se hayan previsto, expresamente, en la oferta o en el contrato celebrado entre el responsable del fichero y el encargado del tratamiento.
- Que el contenido concreto del servicio subcontratado y la empresa subcontratista conste en la oferta o en el contrato.
- Que el tratamiento de datos personales, por parte del subcontratista, se ajusta a las instrucciones del responsable del fichero.

3. LAS MEDIDAS DE SEGURIDAD

El tratamiento de los datos personales exige, en todo caso, la implantación efectiva de medidas de seguridad. Estas medidas tienen como finalidad garantizar la integridad, la confidencialidad y la disponibilidad de la información, evitando su pérdida o alteración; así como impedir los accesos no autorizados.

La adopción de las medidas de seguridad corresponde al responsable del fichero; es decir, a la persona o entidad que decide la finalidad, contenido y uso de los datos personales y, también, a los terceros que le presten servicios que permitan acceder a la información personal.

Las medidas de seguridad no sólo deben ser de naturaleza técnica, sino también organizativa, puesto que las deficiencias en estas últimas pueden producir debilidades o hacer ineficaces las primeras, como demuestra con frecuencia la experiencia práctica.

Las medidas de seguridad se clasifican en tres niveles: básico, medio y alto, atendiendo a la naturaleza de la información tratada en relación con la mayor o menor necesidad de garantizar la confidencialidad y la integridad de la información.

En particular, los tratamientos de los datos relacionados con la salud, como es el caso de la información genética, requieren, además de las medidas de seguridad de nivel básico y medio, las de nivel alto.

Las medidas de seguridad exigibles, conforme a la normativa de protección de datos de carácter personal, tienen la condición de mínimos exigibles, y se deben completar con las que puedan contemplar otras disposiciones legales específicas.

Antes de la implantación o de la modificación de los sistemas de información se pueden realizar pruebas. Estas pruebas no se deben realizar con datos reales pero, en el caso de que sí se utilicen, se deben cumplir todas las medidas de seguridad.

Asimismo, el tratamiento de los datos se realiza fuera de los locales donde está ubicado el fichero y deberá ser expresamente autorizado por el responsable del mismo y garantizarse el nivel de seguridad exigible a dicho fichero.

En cualquier caso, las necesidades de seguridad exigibles a un fichero, y en particular las relativas al control de acceso, se deben garantizar con independencia de que el acceso se esté realizando localmente desde las mismas instalaciones en las que se encuentra ubicado el fichero, o de que se realice remotamente a través de redes de telecomunicaciones.

También los ficheros temporales deben cumplir estas medidas de seguridad y borrarse cuando hayan dejado de ser necesarios para los fines que motivaron su creación.

Una de las medidas de seguridad fundamentales es la elaboración de un documento de seguridad. Este documento es de obligado cumplimiento para el personal que

accede a los datos personales y a los sistemas de información y constituye el eje de la política de seguridad de los datos.

El documento tiene un contenido mínimo que incluye su ámbito de aplicación, con especificación detallada de los recursos protegidos; las medidas, las normas, los procedimientos, las reglas y los estándares que garantizan la seguridad; la estructura de los ficheros con datos personales y la descripción de los sistemas que los tratan; el procedimiento de notificación, gestión y respuesta a las incidencias y los procedimientos de realización de copias de respaldo y de recuperación de la información.

El documento de seguridad debe identificar al responsable o responsables de la seguridad, contener los controles periódicos que se tengan que realizar para verificar el cumplimiento de lo dispuesto en el propio documento y qué medidas adoptar cuando un soporte vaya a ser desechado o reutilizado. Por soporte se entiende cualquier objeto físico susceptible de ser tratado en un sistema de información y sobre el cual se pueden grabar o recuperar datos.

Los responsables de seguridad son las personas designadas por el responsable del fichero a los que se les encarga la coordinación y el control de las medidas establecidas en el documento de seguridad.

No obstante, el hecho de que se designen responsables de seguridad no supone una delegación de la responsabilidad que corresponde al responsable del fichero.

El documento de seguridad se debe mantener siempre actualizado, siendo necesaria su revisión cuando se produzcan cambios relevantes en el sistema de información o en la organización del mismo.

Los usuarios, únicamente, pueden tener autorizado el acceso a los datos y recursos que precisen para el desarrollo de sus funciones, por lo que se deben establecer mecanismos que eviten que un usuario pueda realizar accesos distintos de los autorizados.

Por ello es imprescindible que el responsable del fichero no sólo documente dichas funciones y obligaciones, sino también que adopte las medidas necesarias para que cada persona conozca las medidas de seguridad que afectan al desarrollo de las funciones que tenga atribuidas, así como las consecuencias en que podría incurrir en el caso de incumplimiento.

Asimismo, es necesario que el documento de seguridad incluya una clara definición de las funciones y obligaciones del personal, ya que de ella dependerán las autorizaciones para acceder a la información o tratar los datos personales.

Con el fin de poder verificar los accesos realizados, de cada uno de ellos se ha de guardar la identificación del usuario, la fecha y la hora en que se realizó el acceso, el fichero al que se ha accedido, el tipo de acceso y si fue autorizado o denegado. En el caso de que los accesos hayan sido autorizados, será preciso guardar también la in-

formación que permita identificar el registro al que se accedió. Toda la información relativa al control de accesos se debe conservar durante un periodo mínimo de dos años.

Complementariamente debe existir una relación actualizada de los usuarios con acceso autorizado al sistema de información, así como procedimientos de identificación y autenticación para realizar dicho acceso.

La relación de usuarios ha de contener el acceso autorizado para cada uno de ellos.

La identificación es el procedimiento que permite reconocer la identidad del usuario autorizado y la autenticación tiene por objeto comprobar dicha identidad. Los mecanismos de identificación deben permitir que ésta se realice de forma unívoca y personalizada.

Los mecanismos de autenticación se pueden basar en la existencia de contraseñas, en cuyo caso los procedimientos para su asignación, distribución y almacenamiento deben garantizar la confidencialidad e integridad de las mismas.

Por otro lado, las contraseñas se deben cambiar cada cierto tiempo –según los periodos que determine el documento de seguridad– y mientras estén vigentes, se han de almacenar de forma no inteligible.

En todo caso se debe limitar la posibilidad de intentar, reiteradamente, el acceso no autorizado al sistema de información.

Los mecanismos que permiten el registro de los datos deben estar bajo el control directo del responsable de seguridad competente, y no se debe permitir, en ningún caso, su desactivación.

Dicho responsable de seguridad se ha de encargar de revisar periódicamente la información de control registrada, y elaborar un informe de las revisiones realizadas y de los problemas detectados, al menos, una vez al mes.

Las anomalías que afecten o puedan afectar a la seguridad de los datos se denominan incidencias.

El procedimiento de notificación y de gestión de las incidencias debe incluir, necesariamente, un registro en el que se haga constar el tipo de incidencia, el momento en que se ha producido, la persona que realiza la notificación, a quien se le comunica y los efectos que se hayan derivado de la misma.

En dicho registro se deben consignar, además, los procedimientos realizados de recuperación de los datos, indicando la persona que ejecutó el proceso, los datos recuperados y, en su caso, qué datos ha sido necesario grabar manualmente en el proceso de restauración de los mismos.

Para la ejecución de los procedimientos de recuperación de los datos es necesaria la autorización por escrito del responsable del fichero.

La recuperación de los datos se debe posibilitar mediante una copia de los mismos en un soporte denominado copia de respaldo.

En relación con ella, el responsable del fichero se debe encargar de verificar la definición y la correcta aplicación de los procedimientos para realizar copias de respaldo y de recuperación de los datos.

Estos procedimientos han de garantizar la reconstrucción de los datos en el momento en que se encontraban, al tiempo de producirse su pérdida o destrucción.

Las copias de respaldo se deben realizar al menos semanalmente, salvo en el caso de que, en dicho periodo de tiempo, no se hubiera producido ninguna actualización de los datos.

Además, se deberá conservar una copia de respaldo y de los procedimientos de recuperación de los datos en un lugar diferente de aquel en que se encuentren los equipos informáticos. Esta obligación de conservación se debe realizar cumpliendo el resto de las medidas de seguridad.

En cuanto a los locales donde se encuentren ubicados los sistemas de información, exclusivamente podrá tener acceso a ellos el personal autorizado en el documento de seguridad.

El tratamiento de la información puede exigir su utilización en distintos lugares. Desde el punto de vista de la seguridad, ello obliga a que se exijan medidas específicas para la gestión de los soportes en que consta aquella.

Los soportes informáticos que contengan datos personales deben permitir identificar el tipo de información que contienen, estar inventariados y almacenarse en un lugar con acceso restringido al personal autorizado para ello en el documento de seguridad.

La salida de estos soportes informáticos, fuera de los locales en los que está ubicado el fichero, sólo puede ser autorizada por el responsable del fichero.

Además, es necesario establecer un sistema de registro de entrada de soportes informáticos que permita, directa o indirectamente, conocer el tipo de soporte, la fecha y la hora, el emisor, el número de soportes, el tipo de información que contienen, la forma de envío y la persona responsable de la recepción, la cual deberá estar debidamente autorizada al efecto.

Del mismo modo, se debe disponer de un sistema de registro de salida de soportes informáticos con la misma información que se ha detallado, excepto la relativa al emisor y a la persona responsable de la recepción, que debe ser sustituida por la correspondiente al destinatario, y a la persona responsable de la entrega.

Cuando los soportes vayan a ser desechados o reutilizados se han de adoptar las medidas necesarias para impedir cualquier recuperación posterior de la información al-

macenada en ellos. Todo ello con carácter previo a que se proceda a darlo de baja en el inventario.

Las operaciones de mantenimiento también pueden dar lugar a que los soportes salgan fuera de los locales donde se encuentran ubicados los ficheros. En tal caso será preciso, asimismo, adoptar las medidas necesarias para impedir la recuperación indebida de la información almacenada en ellos.

La distribución de los soportes que contengan datos personales relativos a la salud se ha de realizar bien cifrando los datos, bien utilizando cualquier otro mecanismo que garantice que dicha información no sea inteligible ni manipulada durante su transporte.

Si la transmisión de dichos datos se realiza a través de redes de telecomunicaciones, se debe cumplir igualmente lo expuesto en el párrafo anterior.

Con el fin de evaluar las medidas de seguridad implantadas, los sistemas de información e instalaciones de tratamiento de datos se han de someter a una auditoría que verifique su cumplimiento y los procedimientos e instrucciones vigentes en materia de seguridad.

A tal efecto, el informe de auditoría debe dictaminar las medidas y controles exigibles, identificar las deficiencias y proponer las medidas correctoras o complementarias que resulten necesarias. Asimismo habrá de incluir los datos, hechos y observaciones en que se basen los dictámenes alcanzados y las recomendaciones propuestas. Estos informes de auditoría tienen que ser analizados por el responsable de seguridad, quien, a su vez, elevará al responsable del fichero las conclusiones pertinentes. El responsable del fichero tiene la obligación de adoptar las medidas correctoras adecuadas.

Los informes de auditoría se han de conservar, además, quedando a disposición de la AEPD o de las agencias autonómicas cuando éstas sean competentes. La auditoría puede ser interna o externa y se debe realizar, al menos, cada dos años.



GUÍA PRÁCTICA

**para la
utilización
de muestras
biológicas en
Investigación
Biomédica**



V. INTERVENCIÓN DE LOS COMITÉS ÉTICOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA (CEIC)

1. Introducción

2. ¿Cuándo se debe recabar la opinión previa del CEIC?

3. ¿Qué documentación se debe presentar para solicitar la autorización de la investigación?

4. Evaluación de proyectos de investigación con muestras biológicas

4.1. Proyectos que suponen una obtención prospectiva de muestras

4.1.A. Proyectos que suponen una obtención prospectiva de muestras con un fin específico de investigación

4.1.B. Proyectos que suponen una utilización adicional para la investigación de unas muestras obtenidas para asistencia

4.2. Aprobación de una investigación sobre muestras ya recogidas

V. Intervención de los Comités Éticos de Investigación Clínica (CEIC)

1. INTRODUCCIÓN

Los Comités Éticos de Investigación Clínica (CEIC) tienen el objetivo de salvaguardar el bienestar y los derechos de los sujetos participantes en la investigación médica, dentro de la que se incluye la investigación sobre personas, incluso la que se basa en las historias clínicas y las muestras biológicas. Tras enunciar este cometido general, puede resultar útil delimitar cuáles son las intervenciones prácticas de los CEIC en el campo de la investigación con muestras biológicas.

Los CEIC surgen con la Ley 25/1990, de 20 de diciembre, del Medicamento, con el objetivo de evaluar los ensayos clínicos con medicamentos o productos sanitarios. En la práctica, estos CEIC cumplen los mismos objetivos en relación con cualquier tipo de investigación sobre personas, incluyendo los que se basan en el análisis de historias clínicas o muestras biológicas.

En primer lugar, se debe señalar que la garantía de respeto a los sujetos de la investigación que aporta el CEIC se articula necesariamente con la garantía que deben aportar los investigadores y los promotores del proyecto, que son, sin duda, los máximos responsables de que la investigación se realice de acuerdo con los principios éticos. Por otro lado, es necesario que la investigación se realice, efectivamente, de acuerdo con los procedimientos y las garantías notificados al CEIC (en la obtención del consentimiento, por ejemplo). El cumplimiento de los procedimientos notificados al CEIC es responsabilidad de los promotores y los investigadores, aunque es conveniente que las instituciones en las que se realiza la investigación y las autoridades competentes establezcan los mecanismos de supervisión adecuados.

2. ¿CUÁNDO SE DEBE RECABAR LA OPINIÓN PREVIA DEL CEIC?

La norma general es que se debe recabar la aceptación previa de un CEIC antes de realizar cualquier proyecto de investigación con muestras biológicas humanas.

Asimismo, en el marco de esta afirmación general, se pueden hacer algunas consideraciones.

El CEIC está implicado en la evaluación de la utilización de muestras biológicas humanas en proyectos de investigación, entendiendo como tales aquellos proyectos diseñados con el fin de obtener conocimiento generalizable (sobre una enfermedad, sobre una población). No todo lo que se separa de la rutina asistencial es investigación. Así pues, no se considerará proyecto de investigación la utilización experimental (pruebas no rutinarias o no aceptadas para la práctica habitual) de muestras biológicas de un paciente concreto con el fin fundamental de la asistencia a ese paciente (diagnóstico, terapéutica...). Por ejemplo, en un paciente se sospecha una enfermedad no habitual y su médico decide remitir una muestra de sangre del paciente a otro centro donde se investiga sobre dicha enfermedad y se está trabajando en la validación de una determinada técnica analítica novedosa. El fin fundamental del médico es el diagnóstico del paciente, por lo que este tipo de utilización experimental de muestras de un paciente concreto se encuadraría dentro de la práctica asistencial y no se consideraría un proyecto de investigación que deba ser aprobado como tal por el CEIC. Por supuesto, este caso está sujeto a los preceptos que establecen la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal (LOPD) y la Ley de Autonomía del Paciente, por lo que se refiere a la información y el consentimiento del paciente o al manejo confidencial de sus datos.

Habitualmente también se consideran fuera del concepto de investigación las auditorías, los controles de calidad o los análisis de la actividad asistencial habitual, aunque el límite entre los dos tipos de actividades puede ser, en alguna ocasión, confuso. Como ejemplos de este tipo de estudios se puede citar un estudio de la utilización real de una determinada prueba diagnóstica y de su adecuación a unos criterios de solicitud previamente acordados o el análisis comparativo de sensibilidad y especificidad de dos pruebas diagnósticas habituales. En no pocos casos, los responsables de estos estudios tienen dudas acerca de si su proyecto necesita la aprobación del CEIC. En caso de duda, el consejo del CEIC siempre será someterlo a la consideración del comité.

El CEIC debe entender que la investigación biomédica es una actividad naturalmente imbricada con la asistencia médica, tanto en lo que se refiere a la investigación sobre terapéutica, como a la etiológica, la epidemiológica, la de utilización de recursos... y se debe tener en cuenta que la investigación biomédica es una actividad imprescindible para el avance de la Medicina. La sociedad y las personas que la forman son beneficiarias de los avances del conocimiento hasta ahora conseguidos, y tienen la responsabilidad de seguir apoyándola. Por ello, se debe huir de prejuicios contrarios a la investigación o de importar a la investigación, en España, procedimientos extraños que tienen su origen en la medicina defensiva, pero que aportan una dudosa contribución a la correcta información, al respeto y a la protección de los derechos de los pacientes. Resulta a veces difícil comprender la distancia que existe entre las garantías que se exigen para el cumplimiento de la LOPD en la investigación epidemiológica y las garantías que existen del cumplimiento de la misma norma en el manejo de los datos de salud de las personas para cualquier actividad que no sea la investigación. Como ejemplo de esas diferencias, se puede pensar en la utilización de los da-

tos personales para campañas institucionales o de imagen, tales como las encuestas de satisfacción de pacientes o las recientes campañas sobre la reducción de las listas de espera quirúrgicas. La utilización de los ficheros de pacientes, para remitirles a su domicilio una carta personalizada de propaganda, es poco probable que se considere aceptable por los CEIC, aplicando los mismos principios que se aplican a los proyectos de investigación.

3. ¿QUÉ DOCUMENTACIÓN SE DEBE PRESENTAR PARA SOLICITAR LA AUTORIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN?

Como se sabe, no existe de momento una legislación en España que regule la investigación biomédica con carácter general ni, por lo tanto, el procedimiento para su autorización. Los ensayos clínicos con medicamentos o productos sanitarios están regulados en el Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero.

Por otra parte, la Comisión Europea publicó en abril de 2004 una guía sobre la documentación que se debe aportar al Comité Ético de Investigación Clínica junto con la solicitud de dictamen sobre un ensayo clínico con medicamentos de uso humano. Este documento prevé algunas cuestiones relativas al uso de muestras biológicas dentro de un ensayo clínico, especificando la necesidad de respetar la legislación sobre protección de datos, y los elementos que deben constar en la información previa a la obtención del consentimiento informado (ver apartado 4.6 y anexo 6 de dicha guía).

En la página web de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, www.agemed.es, se pueden consultar las legislaciones nacional y europea anteriormente mencionadas y encontrar información detallada sobre los requisitos aplicables en estos casos.

La documentación que se debe presentar al CEIC referente a un proyecto de investigación referido únicamente a la utilización de muestras biológicas constará normalmente de un protocolo, de documentos que se emplearán en la obtención del consentimiento informado, de un resumen del *curriculum vitae* de los investigadores y de una descripción somera del centro donde se llevará a cabo la investigación. El contenido de estos documentos debe permitir al CEIC evaluar los aspectos que se detallan en el apartado siguiente.

4. EVALUACIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN CON MUESTRAS BIOLÓGICAS

Cuando un CEIC se enfrenta a un proyecto de investigación con muestras biológicas, la primera diferencia que habitualmente se establece es la siguiente:

1) Se trata de una **recolección prospectiva de muestras** para un proyecto de investigación. En estas recolecciones prospectivas pueden distinguirse las siguientes situaciones (Figura 1):

- Las muestras se obtienen expresamente para investigar sobre ellas, es decir, la extracción de sangre u obtención de tejido se realiza para la investigación. Algunas veces la obtención se realizará aprovechando un procedimiento asistencial (extracción de un tubo más de sangre al pinchar al paciente, obtención de una muestra de tejido adyacente adicional en la cirugía...).
- Las muestras sobre las que se investiga son el material que se ha obtenido para la asistencia (tejido tumoral, muestra de sangre o suero sobrante tras realizar los análisis necesarios...).

2) Se trata de un proyecto de **investigación que se realiza sobre muestras ya recogidas y archivadas**. En este caso, las muestras pueden haberse obtenido en el transcurso de la asistencia normal o en un proyecto de investigación previo.

4.1. Proyectos que suponen una obtención prospectiva de muestras

4.1.A. Proyectos que suponen una obtención prospectiva de muestras con un fin específico de investigación

En los proyectos que suponen una obtención prospectiva de muestras con un fin específico de investigación se debe obtener el consentimiento informado del paciente por

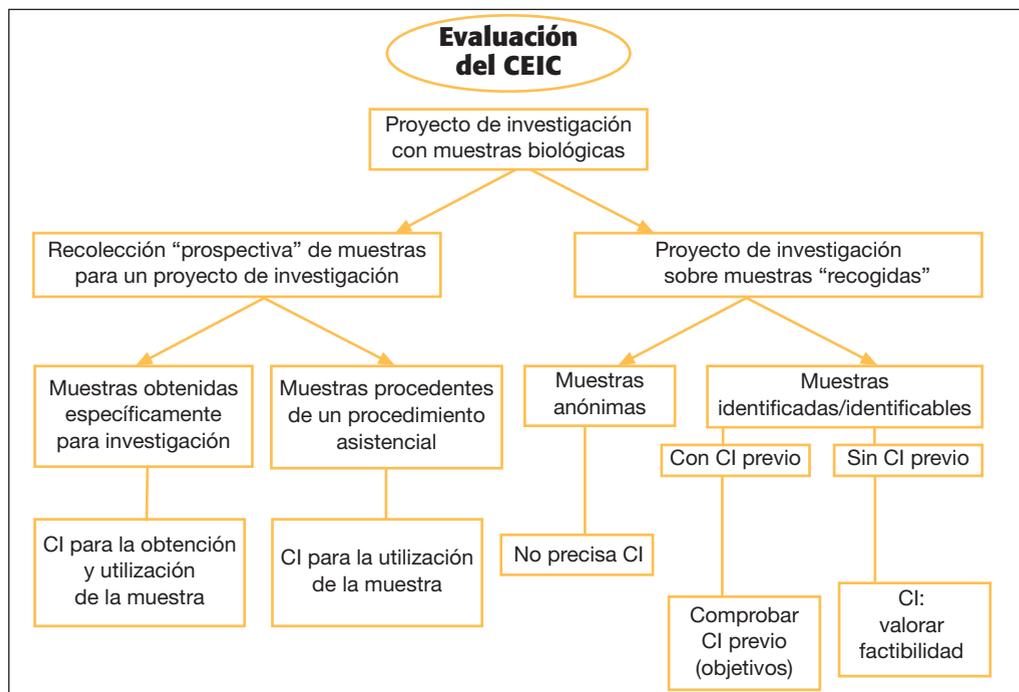


Figura 1. Evaluación del CEIC.

escrito. El CEIC evaluará el consentimiento que han de firmar los sujetos participantes en la investigación, que se presentará junto con el protocolo del proyecto al que está vinculado. Se tendrán en cuenta los siguientes aspectos que constan en la Tabla I (véase además la “Guía para la elaboración del consentimiento de los sujetos” en el capítulo VI de la presente guía).

TABLA I. Aspectos que debe recoger el consentimiento informado

Hoja de información al paciente: consentimiento informado

- Objetivo de la recolección de muestras
- Método de obtención de las muestras
- Método de identificación (muestras anónimas vs. identificables)
- Conservación (dónde, cómo y cuánto tiempo)
- Voluntariedad de la participación
- Derecho de revocación
- Confidencialidad
- Cesión
- Explotación de resultados
- Ausencia de beneficio económico

A.1. Objetivo de la recolección de dichas muestras

El objetivo de la recolección de una muestra biológica puede: a) estar vinculado a un proyecto de investigación con un objetivo concreto o b) formar parte de un banco de muestras. Obviamente, el objetivo será más amplio en el caso de los bancos de muestras, lo cual es aceptable siempre que el sujeto esté adecuadamente informado acerca de las actividades para las que consiente (por ejemplo, la investigación sobre enfermedades cardiovasculares, la investigación médica en general...). Para evaluar cuál es la amplitud del espectro de investigación que se puede considerar aceptable hará falta valorar al mismo tiempo el interés del proyecto, si se trata de muestras identificables o anónimas y el tiempo y condiciones de conservación de muestras y datos que se propone (ver información adicional del apartado 3.2 y de la sección 7 del capítulo II de esta guía).

A menudo se dan las dos situaciones y las muestras se destinan inicialmente a un proyecto concreto pero se desea mantenerlas posteriormente en un banco. El sujeto consentirá de forma independiente para las dos utilizaciones y se explicarán las limitaciones establecidas en cada caso en cuanto a utilización y tiempo de almacenamiento, identificabilidad de las muestras y demás requisitos que se desarrollan a continuación. En los casos en que el sujeto pueda contemplar su participación en el proyecto de investigación como beneficiosa para su enfermedad (por ejemplo, ensayo clínico terapéutico), el CEIC debe vigilar que el consentimiento para la donación a un banco de muestras se plantee de forma independiente para preservar su carácter voluntario, que podría verse en peligro por el deseo o la necesidad del paciente de participar en el ensayo terapéutico.

A.2. Método de obtención de las muestras

Se debe recabar el consentimiento informado tanto para la obtención de la muestra como para su utilización. Los riesgos y las molestias derivados del procedimiento de

obtención de la muestra deben estar contemplados en el consentimiento. El hecho de que la obtención genere poco o nulo daño o riesgo para el paciente no exime de informar y solicitar el consentimiento del paciente para dicha obtención. Por ejemplo, si se trata de obtener un tubo de sangre adicional aprovechando un pinchazo que se realiza al paciente debido a su asistencia normal, aunque no sea preciso extenderse en los riesgos y molestias del pinchazo, se debe pedir consentimiento para la obtención del tubo adicional. Si el procedimiento de obtención de la muestra conlleva riesgos importantes para la salud del sujeto, no se podría justificar la obtención en aras de la investigación científica, ni tan siquiera con el consentimiento del sujeto (ver información adicional en el apartado 2.2 del capítulo II de esta guía).

A.3. Método de identificación de las muestras

Tras la extracción de la muestra se le asignará un código que será su único identificador. El código asignado no debe permitir extraer ningún tipo de información sobre la identidad o patología del paciente. Con frecuencia se encuentran códigos formados por las iniciales del paciente o en los que se incluyen iniciales de la patología que padece, lo cual no es aceptable dado que facilita la divulgación de información de carácter personal del sujeto participante. Las muestras pueden ser: 1) anónimas (no es posible su vinculación a una persona identificable por nombre, dirección, número de historia clínica...), en este caso no será necesario establecer los puntos relativos a la confidencialidad, almacenamiento y derecho de revocación del consentimiento (LOPD); o 2) muestras identificables o identificadas, en cuyo caso se deberán establecer y garantizar las acciones destinadas a mantener la confidencialidad de los datos de acuerdo con lo establecido en la LODP (ver información adicional en los apartados 4.1.A.3 y 4.2.A del capítulo II de esta guía).

A.4. Conservación

La persona debe dar su consentimiento para la conservación y el almacenamiento de la muestra y debe ser informada acerca de dónde, cuánto tiempo y para qué fines se almacena. La muestra se debe conservar en un lugar seguro y de acceso restringido. Se conservará por un periodo de tiempo limitado y proporcional al tiempo necesario para llevar a cabo los objetivos establecidos. En el caso de los bancos de muestras, parece más difícil definir un periodo limitado de tiempo, pero se entiende que éste nunca debe ser superior al requerido para garantizar su manejo confidencial. Debe establecerse si, transcurrido ese tiempo máximo, las muestras serán destruidas o bien se conservarán pero tras destruir el código que las mantiene identificables, pasando a formar parte de un banco de muestras anónimas. En este último caso (muestras anónimas o anonimizadas), no es necesario establecer los requisitos anteriores, aunque el paciente debe conocer y consentir que su muestra será conservada de este modo (ver información adicional en el apartado 4.2 del capítulo II de la presente guía).

A.5. Confidencialidad

Se debe garantizar que la información clínica referente al sujeto y los datos obtenidos del manejo de su muestra serán considerados confidenciales y tratados en consecuen-

cia, de acuerdo con los requisitos establecidos en la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal. El acceso a la relación entre el código de la muestra y la identidad del sujeto estará restringido al personal autorizado. La confidencialidad se garantizará incluso en el supuesto de que se transfieran datos o parte de la muestra a terceras personas (ver información adicional en los apartados 4.2.B y 6.3 del capítulo II, sección 7 del capítulo II, y en la sección 3 del capítulo IV de esta guía).

A.6. Gratuidad de la donación

El sujeto debe ser informado de la gratuidad de la transmisión de la propiedad de órganos, tejidos y células siempre que estén destinados meramente a la investigación científica. Sin embargo, parece razonable que al sujeto se le compense por las molestias derivadas de la obtención de la muestra (por ejemplo, gastos de desplazamiento), sin que esta “compensación” se convierta en “remuneración” (ver información adicional en los apartados 2.3 y 9.6 del capítulo II de esta guía).

A.7. Cesión a terceros

En cuanto a la cesión de la muestra a terceras personas, ésta debe ser consentida por el sujeto y nunca se podrá comerciar con ella. Es necesario señalar que en ocasiones el investigador subcontrata un determinado análisis de la muestra a un laboratorio externo. Se entiende que la propiedad de la muestra, en este caso, continúa siendo del investigador y que no se está cediendo el derecho al control y al manejo de la muestra a terceras personas (ver más información en los apartados 5.3, 6.2 y 6.3 del capítulo II de la presente guía.).

A.8. Explotación de resultados

El CEIC debe valorar la existencia de un posible beneficio particular para el paciente a partir de los resultados del análisis. Si existe posible beneficio, cuando se solicite el consentimiento para participar en la investigación, se debe preguntar sobre el deseo de ser o no informado de los hallazgos de la investigación. Esta disposición no es aplicable a investigaciones sobre datos completamente anónimos ni a resultados que no permitan sacar conclusiones particulares sobre las personas que hayan participado en tales investigaciones. Asimismo, cuando no se prevea un beneficio directo e individual para el sujeto, se le deberá informar adecuadamente (ver más información en el apartado 4.2.C del capítulo II de esta guía).

A.9. Derecho de revocación del consentimiento

El consentimiento siempre es revocable. Este derecho sólo es ejercitable cuando se trata de muestras asociadas o asociables a un sujeto identificado. El consentimiento debe establecer las consecuencias de la revocación, esto es, la destrucción o la anonimización de la muestra y la no obtención de nueva información biomédica de esa muestra, así como informar de la no destrucción de la información biomédica obtenida hasta ese momento de dicha muestra (ver información adicional en el apartado 3.2 del capítulo II de la presente guía).

A.10. Voluntariedad de la participación

El consentimiento para participar debe otorgarse de forma libre y convenientemente informada. El sujeto debe ser informado de que su participación es voluntaria, así como de que tiene derecho a negarse a participar en cualquier momento sin que por ello se vea afectada su atención médica.

A.11. Ausencia de beneficio económico

Es habitual que los promotores quieran incluir un párrafo aclarando que el sujeto no tiene derechos sobre las patentes y explotaciones comerciales de los descubrimientos que se realicen. Se entiende que la inclusión de esta información sirve para proteger los intereses de los promotores más que los del sujeto participante, pero parece razonable a raíz de las controversias generadas por situaciones como el caso Moore contra el Rectorado de la Universidad de California (ver información adicional en la sección 9 del capítulo II y en el caso práctico 6 del capítulo VI).

4.1.B. Proyectos que suponen una utilización adicional para la investigación de unas muestras obtenidas para asistencia

En los proyectos que suponen una utilización adicional para investigación de unas muestras obtenidas para asistencia, como ya se ha indicado, el consentimiento para el procedimiento principal justifica la extracción de la muestra y, por tanto, no es necesario un consentimiento para la obtención, pero será necesario que el paciente consienta en esa utilización secundaria de su muestra para la investigación. Es posible que el consentimiento para la utilización en investigación se plantee como unos párrafos adicionales a un consentimiento que ya está previsto obtener para el procedimiento al que el paciente va a ser sometido, o que el consentimiento de utilización para la investigación sea el único consentimiento formal que se va a obtener del paciente.

En ambos casos, la evaluación debe referirse a los aspectos ya comentados referidos en la Tabla I.

Aunque no sea lo habitual, actualmente en los hospitales españoles se ha sugerido la conveniencia de incluir de forma rutinaria algunos párrafos en los consentimientos asistenciales para que, con las oportunas salvaguardas de confidencialidad y de respeto, los pacientes puedan autorizar el uso de sus datos para actividades de investigación y docencia.

4.2. Aprobación de una investigación sobre muestras ya recogidas

Es muy habitual que el CEIC se enfrente a un proyecto de investigación sobre muestras ya recogidas y archivadas en condiciones dispares de consentimiento, garantías de confidencialidad y demás requisitos.

En general, se acepta que el uso en investigación de muestras anónimas que provienen de colecciones ya existentes no precisa una evaluación por el CEIC mientras se trate únicamente de investigación *in vitro*.

En el caso de muestras identificadas o identificables, se considera que la investigación se realiza en seres humanos y se debe evaluar por un CEIC. La manera de enfrentarse a estos proyectos no debería ser muy distinta de los planteamientos que los CEIC se hacen al evaluar proyectos de investigación sobre datos ya recogidos en las historias clínicas.

Se plantean dos situaciones fundamentales:

- Las muestras se obtuvieron con el consentimiento para la investigación: se debe comprobar si dicho consentimiento contempla el objetivo actual de investigación, en cuyo caso no sería necesario volver a recabarlo. A menudo, aunque la nueva investigación no estuviera incluida en el proyecto para el que el individuo consintió, los objetivos y procedimientos del nuevo estudio son muy similares y el CEIC no encuentra dificultades para juzgar si la nueva investigación planteada se encuentra incluida.
- Las muestras se obtuvieron sin el consentimiento para la investigación o la investigación propuesta se juzga no cubierta por el consentimiento otorgado. En principio, se debe solicitar el consentimiento para el nuevo proyecto y el CEIC valorará si la información aportada al sujeto cumple con los requisitos mencionados en la Tabla I.

En el segundo caso se debe tener en cuenta la factibilidad de obtener el consentimiento del sujeto. No existe razón para obviar la obtención del consentimiento si, por ejemplo, se trata de pacientes que acuden periódicamente a la consulta del investigador. En cambio, cuando la obtención del consentimiento requiera medidas activas para contactar con los pacientes (cartas, llamadas, anuncios...), el CEIC debe entender que esta acción puede, en sí misma, generar inconvenientes a los pacientes y a sus familiares y no se debe proponer sin sopesar cuidadosamente si realmente supone una protección del bienestar y de los derechos de los pacientes.

Cuando la obtención del adecuado consentimiento suponga un esfuerzo y la utilización de tiempo y de recursos que ponga en peligro la viabilidad del proyecto, el consentimiento se debe considerar no factible y no se debe exigir sin sopesar cuidadosamente si es imprescindible, puesto que, *de facto*, su exigencia puede suponer un veto a la realización de la investigación.

Si el contacto con los donantes no es posible realizarlo con un esfuerzo razonable y se prevé la utilización de muestras identificadas o identificables, aunque no existe legislación nacional al respecto, teniendo en cuenta la Recomendación (2006) 4 del Comité de Ministros del Consejo de Europa sobre la investigación con muestras biológicas de origen humano, el proyecto de investigación podría ser viable –sin el consentimiento de los sujetos– si el CEIC concluye que se cumplen las afirmaciones recogidas a continuación:

- La investigación aborda una cuestión de interés científico notable.
- Los objetivos no podrían conseguirse utilizando muestras biológicas para las que se disponga del consentimiento informado del donante.
- No se prevén consecuencias negativas para los sujetos donantes o sus familiares derivadas de llevar a cabo la investigación.
- No consta oposición expresa de los sujetos para la utilización de las muestras con los fines previstos.



GUÍA PRÁCTICA

**para la
utilización
de muestras
biológicas en
Investigación
Biomédica**



VI. ANEXOS

1. Casos prácticos

- Caso práctico 1
- Caso práctico 2
- Caso práctico 3
- Caso práctico 4
- Caso práctico 5
- Caso práctico 6

2. Guía para la elaboración del documento de consentimiento de los sujetos

3. Lecturas recomendadas

- 3.1. Procedimientos técnicos de utilización de las muestras biológicas
- 3.2. Prácticas de seguridad
- 3.3. Gestión de calidad
- 3.4. Aspectos éticos y jurídicos
 - 3.4.A. Legislación
 - 3.4.B. Otros documentos
 - 3.4.C. Bibliografía

VI. Anexos

1. CASOS PRÁCTICOS

Caso práctico 1. Acerca de los criterios de distribución de la muestra

Un investigador del Fondo de Investigación Sanitaria (FIS), que trabaja en el hospital universitario A, ha realizado un estudio de expresión múltiple mediante *arrays* de ADN y se plantea utilizar muestras congeladas de cierto tipo poco frecuente de tumores humanos para confirmar sus resultados. Se dirige al responsable del banco de tumores de su propio hospital para pedirle las muestras que necesita. Mientras tanto, otro investigador perteneciente al hospital B de otra comunidad autónoma, al que acaban de conceder un proyecto del Plan Nacional, pide al banco de tumores del hospital A un número similar de muestras de la misma entidad tumoral. ¿A quién se deben enviar preferentemente las muestras?

Este caso trae a colación dos preguntas de fondo como son, en primer lugar, cuáles son los criterios para aprobar una solicitud problemática y, en segundo lugar, cómo repartir la misma muestra entre dos investigadores.

La respuesta a la primera pregunta es compleja: en primer lugar, una decisión relativamente tan compleja como la que debe tomar el responsable de este banco de tumores se debería tomar en realidad de manera colegiada por parte del Comité Científico del banco. En esta decisión los criterios más importantes deberían ser:

- Que exista un aval científico para el proyecto. Probablemente, el hecho de que haya sido evaluado por pares –por ejemplo, la Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva (ANEP)– es un criterio suficiente.
- Que el proyecto tenga viabilidad económica (no porque el banco dependa de los pagos, sino porque un proyecto financiado supone un compromiso más fuerte para los miembros de su equipo investigador).
- Que exista una garantía ética para el proyecto.

La respuesta a la segunda pregunta es que dicha disyuntiva es con frecuencia ficticia: muchos investigadores pueden compartir cantidades limitadas del mismo material. Eso es evidente en el caso de las muestras líquidas (suero/plasma, ADN, ARN, células sanguíneas), donde la práctica habitual es realizar múltiples alícuotas del material almacenado. En el caso de los tejidos sólidos, una buena práctica es congelarlos en

criomoldes junto a un criopreservante (por ejemplo, OCT), lo que permite realizar múltiples secciones en un criostato; es realmente sencillo compartir con los investigadores secciones de criostato de un tejido sólido. La otra opción es realizar de manera sistemática suspensiones celulares de tumores sólidos, alicuotarlas y conservarlas congeladas. Se pueden enviar criotubos con suspensiones celulares a los investigadores sin necesidad de descongelar las células.

Un comentario adicional al problema es que resulta muy difícil que un solo hospital disponga de las muestras de una entidad poco frecuente necesarias para poder atender él solo las necesidades de un grupo de investigación. Por esta razón, los bancos de tejidos de España están agrupados habitualmente en redes cooperativas, con protocolos idénticos, y frecuentemente con las mismas bases de datos.

Caso práctico 2. Acerca de los criterios de selección de la muestra para biobancos

El responsable del banco de tumores de cierto hospital acaba de recibir la acreditación necesaria para que el banco comience a almacenar muestras. Se trata de un hospital terciario de 1.500 camas, que genera un número potencial de muestras de unas 850 al año. Puesto que el espacio de almacenamiento y los recursos del banco son limitados, dicho responsable se plantea qué tipo de muestras debe tener preferencia.

Está claro que un banco no puede admitir y almacenar indefinidamente todo el material disponible: sería demasiado costoso y probablemente poco útil. A la hora de poner en marcha un banco hay que dejar bien establecidos sus objetivos. En general, los biobancos pueden tener como objetivo la investigación epidemiológica o poblacional, la investigación de enfermedades específicas, un carácter diagnóstico o un carácter terapéutico. Cada biobanco debe concretar sus objetivos. Éstos pueden estar determinados por el tipo de institución, los intereses de los grupos de investigación del centro o el tipo de pacientes/donantes a los que se dirija.

En el caso del problema expuesto (un banco de tumores hospitalario), y con carácter muy general, se puede sugerir que durante los dos primeros años la mitad de las muestras almacenadas corresponda a los tipos tumorales más prevalentes (mama, colon, pulmón, etc.) con el fin de adquirir unos fondos mínimos con los que hacer frente a solicitudes de proyectos de investigación. La otra mitad podría ir dirigida a los casos de entidades que interesen especialmente a los grupos de investigación del centro o red en la que se encuadre el banco, o bien a todo tipo de tumores menos frecuentes (linfoides, melanomas, sarcomas, etc.). En el caso del problema presentado es muy probable que, en dos años, se hayan cubierto los fondos mínimos de los tumores más prevalentes, con lo que a partir de ese momento posiblemente merezca la pena centrarse sólo en los tumores menos prevalentes o más interesantes para el centro.

Este comentario se podría aplicar prácticamente igual en el caso de un banco de tumores que tenga un número menor de muestras al año. Aquí, sin embargo, el tiempo necesario para tener unos fondos mínimos de los tumores más prevalentes es mayor,

con lo que la sugerencia sería la de continuar durante un periodo de tiempo mayor con la recomendación realizada en el párrafo anterior para los primeros dos años de vida del banco.

Caso práctico 3. Acerca del consentimiento informado en muestras almacenadas no anónimas: caso práctico de un banco actual de ADN

Planteamiento

Primera parte

Muestra de sangre de una niña que llegó al laboratorio hace seis años con un volante de petición: “Descartar síndrome X frágil” por retraso psicomotor y retraso mental no tipificado con conductas autistas. No se dispone nada más que del volante del clínico que lo indica y no existe consentimiento informado.

Se extrae el ADN de la muestra, se realiza el estudio molecular solicitado y la niña no da positivo para el síndrome X frágil. Se informa convenientemente por escrito al clínico que ha remitido la petición. El ADN extraído de la muestra sanguínea se archiva en el banco.

Segunda parte

Años más tarde se obtiene un proyecto para el estudio genético del retraso mental no tipificado. Se trata de chequear una serie de genes para ver si presentan mutaciones en casos de pacientes sin diagnóstico. El proyecto ha sido bien protocolizado, tiene el consentimiento informado aprobado por el CEIC del hospital y se sigue correctamente la pauta con los pacientes que acuden prospectivamente.

Pero el laboratorio tiene –como tantos otros– miles de muestras en el banco, muchas de ellas susceptibles de aplicarse en el proyecto mencionado. Es imposible para el equipo investigador llamar a todos los pacientes para explicar el proyecto y recabar el consentimiento informado, ya que en muchos casos no existe ni historia, ni teléfonos, ni contactos. Aun así, debido a la importancia diagnóstica del proyecto y a las implicaciones familiares y de prevención, así como a la baja prevalencia de estas anomalías, se decide abordar también el estudio retrospectivo.

Tercera parte

Se encuentra una anomalía en la niña mencionada en la primera parte que, sin lugar a dudas, justifica la clínica mencionada.

Hay que informar a los padres de la niña no sólo del hallazgo, sino también de por qué se ha llevado a cabo la detección, por qué había muestras en el banco y, además, dado que se ha pagado con un fondo de investigación, de que sería conveniente que colaboraran aportando más datos. Tarea nada fácil para personas que, en general, desconocen todo sobre los nuevos hallazgos de la Genética.

Resolución del caso

En primer lugar, se localiza al clínico que en su día derivó a la paciente. Se le explica el caso y, por la complejidad del estudio realizado y de los resultados obtenidos, opina que debe ser el equipo investigador el que explique el tema a los padres. Aun así, él es el que contacta con la familia a través de los datos de su historia y les comunica que hay novedades en el caso de su hija y que es importante que se pongan en contacto con el equipo investigador.

Los padres llaman un poco extrañados y, entonces, se les recuerda la extracción que en su día se hizo para el síndrome X frágil y que resultó negativa. Se les pregunta cómo evoluciona la niña y, al comprobar que sigue sin diagnóstico y que los padres continúan buscando qué tiene su hija, se les explica el proyecto que se está realizando actualmente.

Se comprueba el interés por participar y, llegado este punto, se les dice la verdad: ya se ha llevado a cabo algún estudio de forma adelantada y, por lo tanto, deberían ir a la consulta para que se les explique todo y para que firmen el consentimiento informado. Aceptan y se les cita.

En la consulta se les explica el proyecto y los hallazgos, así como sus consecuencias clínicas tanto para la niña como para sus familiares, por la posibilidad de ser hereditaria. Se pide la colaboración por parte de la familia, así como la aportación de más muestras y datos de la niña.

Se utilizan en la consulta los recursos del asesoramiento genético: cercanía a la familia, comunicación fluida, explicación clara y exhaustiva, optimismo a la hora de encarar los resultados, receptividad para contestar cualquier pregunta formulada por ellos...

El resultado es que los padres, tutores de la niña discapacitada y por lo tanto personas legales para firmar el consentimiento informado, otorgan su consentimiento a toda la investigación planteada por el equipo y agradecen que se siga investigando.

Caso práctico 4. Acerca de la creación de un banco de células madre de cordón umbilical

En los últimos años, la utilización de células de cordón umbilical para el tratamiento de determinadas patologías hematológicas y, sobre todo, como posible fuente de células utilizables en terapia celular y Medicina Regenerativa ha aumentado considerablemente el interés por su almacenaje y utilización.

Algunos autores, realmente con poca base científica, han argumentado que el cordón podría ser mejor fuente de células troncales que la sangre periférica o, incluso, que la médula ósea, porque el número de éstas es mayor en él y porque son células primitivas con una bajo grado de antigenicidad. Ello ha ocasionado que,

junto con los bancos públicos, distintos organismos e instituciones privadas, y hasta particulares, pretendan crear bancos de células madre de cordón umbilical.

PROBLEMA: la autorización para la creación de un banco de células madre de cordón umbilical a un particular que proporciona exclusivamente la infraestructura necesaria para el almacenaje. El banco pretende cobrar a los depositarios solamente el coste del almacenaje (aproximadamente 60 €/mes), asegurando la preservación de las células durante diez años.

En realidad, el problema propuesto encierra dos interrogantes: ¿el establecimiento previsto es un verdadero biobanco? ¿Debería ser autorizado independientemente de su naturaleza?

En la actualidad no existe todavía, en la legislación española, una normativa clara al respecto y realmente tampoco en la europea. La Directiva 2004/23/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 31 de marzo de 2004, insta a los Estados miembros a que “adopten medidas destinadas a fomentar una participación destacada del sector público y de los organismos, sin ánimo de lucro, en la prestación de servicios de aplicación de células y tejidos...”.

Para contestar a la pregunta de si el establecimiento propuesto es o no un biobanco, habría que revisar sus características con respecto a la definición que se está dando del mismo en la presente obra. De esta forma, se podría entender que alguna característica del biobanco sí se podría cumplir, como la necesidad de trabajar “sin ánimo de lucro”. Es muy dudoso, sin embargo, que cumpla los aspectos referidos a “acoger una colección de muestras biológicas organizada como una unidad técnica con criterios de calidad, orden y destino”, y desde luego no cumpliría aquellos que indican que el biobanco es un establecimiento “con fines diagnósticos o de investigación biomédica”.

Parece, por consiguiente, que este tipo de establecimiento no cumple con la definición de un verdadero biobanco.

Con respecto a si debería autorizarse la apertura de tal establecimiento, habría que tener en cuenta que la creación de un biobanco sólo debería ser aprobada si cumple, entre otras, las siguientes características:

- Su organización, objetivos y medios disponibles deben justificar su interés biomédico.
- Contará con un director científico y sendos comités externos, uno de ellos científico y el otro ético.
- Deberá ser certificado por el Ministerio de Sanidad y Consumo, tras inscribirse en el Registro Nacional de Biobancos.
- Sus actividades no deberán reportar lucro a sus responsables.

Un establecimiento como el descrito no debería, por consiguiente, ser autorizado para ejercer como biobanco.

Caso práctico 5. Acerca de la utilización de muestras de pacientes fallecidos

Entre 1993 y 1995, con motivo de la realización de un proyecto financiado por la Unión Europea, cinco laboratorios de diferentes países obtuvieron un número muy importante de muestras biológicas (plasma y ADN) de pacientes que habían sufrido un infarto de miocardio y de sujetos sanos. En ese periodo no se consideró necesario solicitar a los participantes en el estudio el permiso específico para utilizar su material genético en un futuro, solamente se obtuvo un permiso genérico de utilización de sus muestras biológicas para investigar nuevos marcadores de riesgo de enfermedad cardiovascular. El estudio finalizó y los resultados fueron publicados.

De acuerdo con lo establecido por los investigadores de los cinco laboratorios, las muestras quedaron almacenadas en uno de los laboratorios participantes, con el acuerdo de utilizarlas en el futuro, previo permiso consensuado, si aparecían nuevos intereses investigadores comunes o de alguno de los laboratorios.

Diez años más tarde, en 2005, uno de los laboratorios quiso utilizar las muestras almacenadas para investigar nuevos factores pronósticos biológicos y genéticos en la enfermedad cardiovascular, y solicitó al resto de los laboratorios que iniciaron el estudio permiso para ofrecer las muestras a un laboratorio europeo al que se le había encomendado un amplio estudio de epidemiología molecular de las diferentes poblaciones europeas.

¿Se podría interpretar que el segundo estudio de riesgo cardiovascular planteado es continuación del primero? ¿Se pueden volver a utilizar estas muestras para un estudio en el área cardiovascular?

Lo importante es saber si el consentimiento de los sujetos que donaron las muestras para el primer estudio comprende que sus muestras se utilicen en un segundo estudio o fase. Si no han cambiado sustancialmente las circunstancias que constaban en la información que los sujetos recibieron y en el documento en el que los sujetos consintieron, se podría responder afirmativamente. A estos efectos, sería sustancial, por ejemplo, que se tratara de otro investigador, de otra finalidad, o que no se respetara lo previsto en relación con el periodo de mantenimiento de la muestra.

¿Se pueden ceder muestras para un nuevo proyecto de epidemiología molecular, independiente del objetivo para el que fueron obtenidas?

No, salvo que se solicite y obtenga un nuevo consentimiento. Se ha de tener en cuenta que los sujetos consintieron en la utilización de las muestras con una finalidad determinada y en unas determinadas circunstancias. Su consentimiento no se refería a otros usos.

¿Se podría utilizar el ADN de los pacientes e individuos sanos a los que se les recogió el ADN en 1992-1995 y que ya han fallecido?

Se deben aplicar los mismos criterios que en las cuestiones anteriores. Es decir, se actuará según los términos en los que consintieron los ahora fallecidos.

Es necesario que la valoración de estas cuestiones se lleve a cabo por el correspondiente CEIC.

Caso práctico 6. Acerca de la participación del sujeto en los beneficios de la investigación

En 1990, la Corte Suprema de California tuvo que resolver el caso Moore contra el Rectorado de la Universidad de California. En octubre de 1976, el Sr. Moore fue ingresado en el *Medical Center* de la Universidad de California en Los Ángeles por una rara clase de leucemia (células peludas). Sobre la base de esta patología, el Dr. Golde aconsejó extirpar el bazo. Moore prestó su consentimiento para la intervención, que se efectuó con toda normalidad. Al mismo tiempo, Golde se había dado cuenta de que el organismo de Moore producía sustancias liberadas por los linfocitos T, vinculadas al funcionamiento del sistema inmunitario: linfocinas en cantidades superiores a las normales. La hiperproducción de esa sustancia, normalmente escasa, hacía posible su aislamiento y su producción artificial a escala industrial, lo que supondría grandes ventajas comerciales y científicas. Pero ni Golde ni su ayudante, el Dr. Quan, informaron a Moore al respecto. Golde utilizaba las células del bazo y las otras sustancias obtenidas de Moore para desarrollar una línea celular que, junto con Quan, pudo patentar en 1981 con el nombre de células MO. La patente cubría varios métodos para usar la línea celular de Moore y producir linfocinas. En 1982, bajo diversos acuerdos cedieron los derechos de explotación comercial al *Genetics Institute* y a los laboratorios farmacéuticos Sandoz.

En 1983, Golde pidió a Moore que firmara un formulario de consentimiento informado relacionado con la utilización de sus células para investigaciones científicas, señalando la solicitud como una mera formalidad. No le comentó nada acerca del valor comercial del material biológico. Moore negó el consentimiento. De este modo, dio comienzo una controversia relativa a la propiedad de los materiales biológicos de Moore y el consiguiente derecho a participar en los beneficios económicos que se derivasen de aquella.

Pero en 1990, la Sentencia de la Corte Suprema de California puso fin al caso, reformando el pronunciamiento precedente y rechazando la demanda de Moore. La Corte entendía que Moore había sido perjudicado por Golde, pero mantenía que no se podía reconocer un derecho de propiedad respecto de los materiales biológicos, desde el momento en que no se puede hablar (sino muy limitadamente) de derecho de propiedad sobre las partes extraídas del cuerpo. Se denegaba así la participación en los beneficios, tanto por la inexistencia de derechos de propiedad, como porque una compensación económica lesionaría la dignidad humana. Finalmente, la Corte decidió en favor de la acción de carácter personal –que dio lugar a una indemnización– más que de la de carácter patrimonial. De todos modos, hubo opiniones disidentes y relevantes en el caso.

Lo que ocurre en este caso es que no se da respuesta a una de las cuestiones más trascendentales: la propiedad de los tejidos –reclamada por el propio Moore–. Por una

parte, la Corte mantuvo que Moore no tenía la propiedad de los materiales porque éstos eran objeto sólo de actos no patrimoniales de autonomía. Pero, por otra, no se mencionaba en absoluto que Golde tuviera los derechos de propiedad sobre los tejidos, sino que únicamente se reconocía que tenía los derechos de patente sobre su invención. De ahí que la decisión de la Corte dejara un vacío de importante trascendencia: cuál es la cuestión de la propiedad del material biológico.

Para otros autores, más que tratar de resolver el problema de la titularidad de los tejidos, habría que pensar en abordar la cuestión del derecho a participar en los beneficios, así se entiende que el único punto indiscutible del caso Moore es el de la entidad de las ganancias obtenidas por la industria farmacéutica. En este sentido, se propone una legislación de concesión de licencias para que se compartan los beneficios con quienes hayan hecho posible la investigación.

Pues bien, el tratamiento de las partes y productos corporales como bienes que pueden ser objeto de comercio se podría considerar una “mercantilización” del cuerpo humano y una ofensa a la dignidad humana (aunque no en muchas ocasiones tendrá una persona células que contengan propiedades únicas que, tras su transformación biotecnológica, puedan suponer la realización de productos comercialmente explotables). En los casos en los que esto suceda, la no obtención de algún beneficio económico haría que los pacientes se sintieran explotados.

A continuación, se plantea la solución si este caso se hubiera suscitado en España.

Los Drs. Golde y Quan tomaron las células del bazo y otras sustancias del Sr. Moore con un consentimiento viciado e incompleto. Hay que recordar que él consintió en la intervención, pero desconocía que sus células se estuvieran utilizando para desarrollar una línea celular que Golde y Quan patentaron. Por lo tanto, conforme al ordenamiento jurídico español, la situación hubiera sido la siguiente:

1) Incumplimiento del artículo 8 de la Ley 41/2002, de 14 noviembre, ley básica reguladora de la autonomía del paciente y de los derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, por cuanto se establece: “Toda actuación en el ámbito de la salud de un paciente necesita el consentimiento libre y voluntario del afectado, una vez que, recibida la información prevista en el artículo 4, haya valorado las opciones propias del caso”.

2) En cuanto a la reclamación por parte de Moore de participar en los beneficios económicos de la patente solicitada por Golde y Quan, se debe considerar que el principio del consentimiento informado no es un requisito de patentabilidad y, si la invención presentada por ambos doctores hubiese cumplido con los tres requisitos de patentabilidad, ésta se podría haber concedido y Moore no hubiese tenido derecho a participar de los beneficios económicos derivados de su explotación comercial porque, como ya se ha explicado anteriormente, que la muestra sea una “cosa” no implica que se pueda comerciar con ella sin restricciones. Por lo tanto, el disponente queda excluido del beneficio económico, consecuencia de la extracomercialidad del cuerpo humano y de la negación de un genuino derecho de propiedad sobre el mismo.

2. GUÍA PARA LA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO DE LOS SUJETOS

Puntos que se deben desarrollar en los modelos de consentimiento para la utilización de muestras biológicas en la investigación biomédica

El sujeto que done sus muestras para la investigación biomédica debe ser informado de los aspectos que se señalan a continuación y debe consentir en los términos que se indica.

1. General

- 1.1. Se aportará un breve resumen de la **investigación**, haciendo hincapié en su finalidad. Será tan concreto como sea posible y se redactará con términos precisos y claros. Se debe explicar qué muestras se quiere obtener, cómo se extraerán y el riesgo que esto podría implicar para su salud. Se identificará el promotor o responsable, el investigador principal y el lugar donde se llevará a cabo la investigación.
- 1.2. El sujeto debe saber que su participación en la investigación es **voluntaria** y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.
- 1.3. Se valorará la conveniencia de concertar un **seguro de daños** por la intervención para la obtención de la muestra y se informará de ello al sujeto.

2. Protección de datos

- 2.1. Se informará de que los datos que se obtengan del análisis de la muestra se van a **archivar**, y de que el tratamiento de los datos de carácter personal se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.
- 2.2. En el documento constará la identidad y la dirección del **responsable** del tratamiento de los datos.
- 2.3. Se informará de que el sujeto tiene derecho a que los datos sean **exactos** y a que se archiven en condiciones de **seguridad**. También se informará de que tiene derecho de **acceso** a los datos que se obtengan del análisis de la muestra, así como a su rectificación y cancelación. Deberá solicitar el ejercicio de estos derechos al responsable del tratamiento de los datos.
- 2.4. Se informará de que, cuando el sujeto revoque su consentimiento para la utilización de la muestra, los datos obtenidos en la investigación **se conservarán como parte de la documentación de dicha investigación**.

- 2.5. Se informará de que todos los datos son **confidenciales**. El acceso a la información personal quedará restringido al investigador del estudio y a sus colaboradores, a las autoridades sanitarias –por ejemplo, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), cuando la muestra se obtenga para fines de un ensayo clínico con medicamentos–, al CEIC y al personal autorizado por el promotor, cuando se precise para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de la misma de acuerdo con la legislación vigente.

3. Características de la información

Se informará de lo siguiente:

- 3.1. A partir de los estudios que se realicen se puede obtener **información de importancia para su salud y para la salud de sus familiares**. Esta información podrá interesar a descendientes futuros.
- 3.2. La información que se obtenga de un análisis **le será comunicada cuando sea importante** para su salud o para la de sus familiares. **Si se trata de información no relevante para su salud, el sujeto decidirá si quiere o no que se le comunique.**
- 3.3. Podrá o no recibir **información global** sobre los resultados del estudio.
- 3.4. La información resultante del análisis de la muestra **no se comunicará a los familiares** del sujeto (podría comunicarse, si así se planificara e informara al sujeto antes de otorgar el consentimiento). Si fuera de interés para los mismos, se insistiría en que el sujeto les informase.
- 3.5. El sujeto y, en su caso, los familiares tendrán derecho a un servicio de **consejo genético**.

4. En relación con la muestra

- 4.1. Se informará sobre el **periodo** previsto de almacenamiento de la muestra y sobre los **procedimientos** o técnicas que se van a practicar sobre la misma.
- 4.2. El sujeto tiene derecho a **revocar su consentimiento** para que la muestra sea almacenada. Los efectos de esta revocación serán bien la **anonimización** de la misma, bien su **destrucción**. El sujeto debe saber qué efecto tendrá la posible revocación del consentimiento.
- 4.3. Se informará sobre el **destino de la muestra cuando finalice la investigación** para la cual se obtuvo: si se mantendrá almacenada, se destruirá o se anonimizará. En el caso de que la muestra se vaya a mantener almacenada de manera identificable, constará el derecho del sujeto a consentir en la realización de análisis no previstos cuando otorgó su consentimiento.

4.4. Se puede ceder la muestra a otros investigadores que podrán realizar nuevos análisis. En este caso, se deberá dar información sobre las **identidades** de los investigadores que pueden recibir la muestra y los **finés** para los cuales se utilizará.

- **Opción 1:** las muestras recogidas para el estudio sólo se transmitirán a terceros y a otros países identificadas con un código que en ningún caso contendrá información que pueda identificar directamente al sujeto, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, número de la seguridad social, etc., ni se pueda relacionar con él.
- **Opción 2:** su muestra se podrá “ceder a” (nombre de cada uno de los posibles cesionarios, dirección y país donde se encuentran) “con la finalidad de” (fin de la cesión). Se deberá especificar si el país de destino cuenta o no con medidas de protección de datos equiparables a las vigentes en España.

4.5. La donación de la muestra es **gratuita** y el sujeto no participará en los posibles beneficios económicos que se deriven de la investigación.

5. Si la muestra se va a almacenar en un banco

Además de lo anterior, se informará sobre:

5.1. La **finalidad** del biobanco en el que se almacenará la muestra.

5.2. El **periodo** de almacenamiento previsto.

5.3. Si la muestra se va a **anonimizar o no**.

5.4. En caso de que la muestra permanezca identificable (por ejemplo, codificada) se aplicará:

- Lo señalado en los puntos 2 y 3 (protección de datos y características especiales de la información que se puede obtener).
- La posibilidad de revocación del consentimiento y sus efectos (destrucción o anonimización).
- La posibilidad de cesión. En este caso, se deberá dar información sobre los fines para los cuales se utilizará la muestra.

3. LECTURAS RECOMENDADAS

3.1. Procedimientos técnicos de utilización de las muestras biológicas

- ABIM Internet Biology: <http://www.up.univ-mrs.fr/~wabim/english/biology.html>.
- Anderlik M. Commercial biobanks and genetic research: ethical and legal issues. Am J Pharmacogenomics 2003; 3 (3): 203-15.

- Asociación Española de Normalización y Certificación. Sistemas de diagnóstico *in vitro*. Envases para el transporte de muestras médicas y biológicas. Requisitos, ensayos. UNE-EN 829. AENOR Madrid 1996.
- Ausubel FM, *et al.* Short protocols in Molecular Biology. Current protocols. Publisher: Wiley 2002.
- Cao W, Hashibe M, Rao JY, Morgenstern H, Zhang ZF. Comparison of methods for DNA extraction from paraffin-embedded tissues and buccal cells. *Cancer Detect Prev* 2003; 27 (5): 397-404.
- Chambless LIE, McMahon R, Wu K, Folsom A, Finch A, Shen Y. Short-term intraindividual variability in hemostasis factors. The ARIC study. *Ann Epidemiol* 1992; 2: 723-33.
- Church JM, Casey G (ed.). *Molecular Genetics of Colorectal Neoplasia: A primer for the clinician*. Springer-Verlag New York, Berlin, Heidelberg 2004.
- Code of Federal Regulations for Transportation. Title 49 Parts 100 to 185.
- Coombs NJ, Gough AC, Primrose JN. Optimisation of DNA and RNA extraction from archival formalin-fixed tissue. *Nucleic Acids Res* 1999 Aug 15; 27 (16): 12.
- Costongs GMP, Bas BM, Janson PCW. Short-term and long-term intra-individual variations and critical differences of coagulation parameters. *J Clin Chem Clin Biochem* 1985; 23: 405-10.
- Costongs GMP, Janson PCW, Bas BM, Hermans J, Brombacher PJ, Wersch JWJ. Short-term and long-term intra-individual variations and critical differences of haematological laboratory parameters. *J Clin Chem Clin Biochem* 1985; 23: 69-76.
- De Álava E (Centro de Investigación del Cáncer, USAL-CSIC, Salamanca), Navarro S (Hospital Clínico Universitario, Valencia), Segura DI (Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla), Peris-Bonet R (Instituto López Piñero, CSIC-UV, Valencia). Documento de consenso del programa de bancos de tumores de la Red Temática de Investigación de Tumores Sólidos Pediátricos.
- Doyle A, Griffiths JB (ed.). *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. John Wiley & Sons.
- Eisenbrey AB. Cell and tissue banking. *Clin Lab Med* 2005; 25: IX-XI.
- Ellis CN (ed.). *Inherited Cancer Syndromes: Current Clinical Management*. Springer-Verlag New York, Berlin, Heidelberg 2004.
- El-Naggar AK. Methods in molecular surgical pathology. *Semin Diagn Pathol* 2002 May; 19 (2): 56-71.

- Fernández PL (Hospital Clínic, Barcelona), Morente M (CNIO), de Álava E (CSIC, Salamanca) (G03/089). Documento de consenso del programa de bancos de tumores de la Red Temática de Investigación de Centros de Cáncer (RTICCC) (C03-10).
- Florell SR, Coffin CM, Holden JA, Zimmermann JW, Gerwels JW, Summers BK, Jones DA, Leachman SA. Preservation of RNA for functional genomic studies: a multidisciplinary tumor bank protocol. *Mod Pathol* 2001 Feb; 14 (2): 116-28.
- Fraser CG, Wilkinson SP, Neville RG, Knox JDE, King JF, MacWalter RS. Biologic variation of common hematologic laboratory quantities in the elderly. *Am J Clin Pathol* 1989; 92: 465-70.
- González-Oller C, Alsina MJ. Base de datos sobre estabilidad de las magnitudes biológicas. <http://seqc.es/bd/soloverde.html>.
- Guder W, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. Samples from the patient to the laboratory. Annex: The quality of diagnostic samples. Git Verlag Darmstadt 2001.
- Heil W, Grunewald R, Amend M, Heins M. Influence of time and temperature on coagulation analytes in stored plasma. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36: 459-62.
- Holland CA, Kiechle FL. Point-of-care molecular diagnostic systems: past, present and future. *Curr Opin Microbiol* 2005 Oct; 8 (5): 504-9.
- Howe JR, Klimstra DS, Cordon-Cardo C. DNA extraction from paraffin-embedded tissues using a salting-out procedure: a reliable method for PCR amplification of archival material. *Histol Histopathol* 1997 Jul; 12 (3): 595-601.
- INSALUD. Catálogo de pruebas de los laboratorios clínicos. Manual de procedimientos. 1999.
- International Organization for Standardization. Medical laboratories: Particular requirements for quality and competences. ISO 15189. ISO Geneva 2003.
- Jiménez CV. Variabilidad biológica intraindividual de las magnitudes citohematológicas como objetivo de calidad analítica. *Quim Clin* 1992; 11: 147-50.
- Jou JM (coord). Manual de obtención, transporte y conservación de muestras biológicas en Hematología y Hemoterapia. AEHH-SETH 2003.
- Jou JM. Obtención y transporte de muestras de centros de extracción periféricos en Hematología. Talleres del Congreso SEDIGLAC, Zaragoza 2003. www.sediglac.org/portada.htm.
- Lehmann U, Kreipe H. Real-time PCR analysis of DNA and RNA extracted from formalin-fixed and paraffin-embedded biopsies. *Methods* 2001 Dec; 25 (4): 409-18.

- Melzi d'Eril G, Anesi A, Rizzo V, Trotti R. Biological variation in Protein C, Protein S, and Antithrombin concentrations in plasma of healthy subjects. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997; 35 (4): 257-60.
- Morgan K, Craven J (ed.). *Current Protocols in Cell Biology*. John Wiley & Sons.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedimiento para la manipulación y el transporte de especímenes diagnósticos y agentes etiológicos; Guía aprobada. NCCLS Documento H5-A3, 3ª ed. aprobada 1994.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedimiento para la manipulación y procesamiento de especímenes de sangre; Guía aprobada. Villanova: NCCLS 1990; documento H18-A.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Villanova Pennsylvania 1991 Jul; documento H3-A3: vol. XI: núm. 10.
- Poljak M, Seme K, Gale N. Rapid extraction of DNA from archival clinical specimens: our experiences. *Pflugers Arch* 2000; 439 (Suppl. 3): R42-4.
- Protocol online: <http://www.protocol-online.org>.
- Ramalho AS, Beck S, Farinha CM, Clarke LA, Heda GD, Steiner B, Sanz J, Gallati S, Amaral MD, Harris A, Tzetis M. Methods for RNA extraction, cDNA preparation and analysis of CFTR transcripts. *J Cyst Fibros* 2004 Aug; vol. III: suppl. 2: 11-5.
- Ramón F (dir.). Recomendaciones para la acreditación de laboratorios clínicos. Comité de Garantía de la Calidad y Acreditación de Laboratorios. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. SEQC Barcelona 1996; vol. I.
- Rapley R, Theophilus DMB. PCR mutation detection protocols: *Methods in Molecular Biology*. Rapley R ed. 2002.
- Recomendaciones acerca del control del tratamiento anticoagulante ambulatorio. Documento consenso oficial AEHH y SETH. Oct 2002. www.seth.org, www.aehh.org.
- Recommendations of the Working Group on preanalytical Quality of the German Society for Clinical Chemistry and the German Society for Laboratory Medicine. The quality of diagnostic samples. Git Verlag GMBH 2001.
- Requisites del transport de mostres de diagnòstic per garantir l'estabilitat de les seves propietats biològiques. Consell Assessor de Laboratoris Clínics. Direcció General de Recursos Sanitaris. Departament de Sanitat i Seguretat Social. Generalitat de Catalunya. Sep 2003.

- Roe BA, Crabtree JS, Khan AS. DNA Isolation and Sequencing (Essential Techniques Series). John Wiley & Sons 1996.
- Rudert F. Genomics and proteomics tools for the clinic. *Curr Opin Mol Ther* 2000 Dec; 2 (6): 633-42.
- Russo J, Russo IM (ed.). *Molecular Basis of Breast Cancer: Prevention and Treatment*. Springer-Verlag New York, Berlin, Heidelberg 2004.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press 1989; vol. III.
- Shapiro HM. *Practical flow Cytometry*. 4th ed. John Wiley & Sons.
- Statland BE, Winkel P, Harris SC, Burdsall MJ, Saunders AM. Evaluation of sources of variation of leukocyte counts and other hematologic quantities using very precise automated analyzers. *Am J Clin Pathol* 1977; 69: 48-54.
- Taylor GR, Day JNM (ed.). *Guide to mutation detection*. John Wiley & Sons 2005.
- The International Air Transport Association (IATA). *Shipping guidelines for infectious substances: Dangerous Goods Regulations*.
- The International Civil Aviation Organization (ICAO). *Instrucciones técnicas para el transporte seguro de mercancías peligrosas por vía aérea*.
- The Universal Postal Union (UPU). *Manual of the Universal Postal Convention*. Lays down detailed regulations for the transport of biological substances by post/mail. 1995.
- The *www Virtual Library Biosciences*: <http://vlib.org/biosciences> o *biología celular en concreto*: <http://www.biochemweb.org>.
- Thompson SG, Martin JC, Meade TW. Sources of variability in coagulation factor assays. *Thrombosis & Haemostasis* 1987; 58: 1073-7.
- Töpfer G, Funke U, Schulze M, Lutze G, Ziemer S, Siegert G. Determination of coagulation parameters in citrated venous blood, catheter blood and capillary blood: preanalytical problems. *J Lab Med* 2000; 24: 514-20.
- United Nations Committee of Experts on the Transport of Dangerous Goods (UN ECOSOC). *Recommendations on the Transport of Dangerous Goods*. UN New York 1997.
- Van den Besselaar AMH, Meeuwisse-Braun J, Jansen-Gruter R, Bertina RM. Monitoring heparin therapy by the activated thromboplastin time. The effect of preanalytical conditions. *Thromb Haemostas* 1987; 58: 226-31.

- Wesman JA. Medical Genetics for the Modern Clinician. Lippincott Williams & Wilkins 2005.
- World Health Organization. Guidelines for the Safe Transport of Infectious Substances and Diagnostic Specimens. WHO/EMC/97.3. WHO Genève 1997.

3.2. Prácticas de seguridad

- Manual de seguridad para operaciones en laboratorios de biotecnología y de tipo biológico del Servicio de Prevención de Riesgos Laborales de la Universidad Politécnica de Valencia.

3.3. Gestión de calidad

- ENAC (Entidad Nacional de Acreditación y Certificación): www.enac.es.
- ISO/TC 176/SC 2/N 544R. Orientación acerca del enfoque basado en procesos para los sistemas de gestión de la calidad. Mayo 2001.
- Norma UNE-ISO 9001:2000.
- Norma UNE-ISO 9000:2000. Términos y definiciones.

3.4. Aspectos éticos y jurídicos

3.4.A. Legislación

- Ley 30/1979, de 27 de octubre, sobre extracción y trasplante de órganos (BOE núm. 266 de 27 de octubre de 1979).
- Convenio para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la Biología y la Medicina (Convenio relativo a los derechos humanos y la Biomedicina), hecho en Oviedo el 4 de abril de 1997 (BOE de 20 de octubre de 1999).
- Protocolo adicional al Convenio relativo a los derechos humanos y la Biomedicina, sobre trasplante de órganos y tejidos humanos, de 24 de enero de 2002.
- Protocolo adicional al Convenio relativo a los derechos humanos y la Biomedicina, sobre investigación biomédica, de 25 de enero de 2005.
- Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal (BOE núm. 298, de 14 de diciembre de 1999).
- Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica (BOE núm. 274, de 15 de noviembre de 2002).

- Real Decreto 411/1996, de 1 de marzo, por el que se regulan las actividades relativas a la utilización de tejidos humanos (BOE núm. 72, de 23 de marzo de 1996).
- Real Decreto 55/2002, de 18 de enero, sobre explotación y cesión de invenciones realizadas en los entes públicos de investigación, de conformidad con lo establecido en el artículo 20 de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes (BOE núm. 26, de 30 de enero de 2002).
- Real Decreto 62/2003, de 17 de enero, por el que se modifica el Real Decreto 1945/1985, de 9 de octubre, por el que se regula la hemodonación y los bancos de sangre (BOE núm. 25, de 29 de enero de 2003).
- Directiva 2004/23/CE, de 31 de marzo de 2004, sobre establecimiento de normas de calidad y de seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos.
- Directiva 2001/20/CE, de 4 de abril de 2001, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros sobre la aplicación de buenas prácticas clínicas en la realización de ensayos clínicos de medicamentos de uso humano.
- Directiva 95/46/CE, de 24 de octubre de 1995, relativa a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de esos datos.
- Acuerdo europeo sobre transporte internacional de mercancías peligrosas por carretera. ADR 2003 (Suplemento de BOE núm. 33, de 7 de febrero de 2003).
- Instrucciones técnicas para la seguridad en el transporte aéreo de mercancías peligrosas de la Organización Internacional de Aviación Civil (ICAO). Montreal: Asociación Internacional de Transporte Aéreo. IATA-DGR 2002.
- Reglamento de Transporte Internacional por Ferrocarril de Mercancías Peligrosas (RID). Contrato de transporte internacional por ferrocarril de las mercancías (CIM o COTIF 1997). 1 de febrero de 2003.
- Código Internacional de Transporte Marítimo de Mercancías Peligrosas (IMDG). International Maritime Organization (IMO). Londres 1995.
- Ley 14/1986, de 25 de abril, General de Sanidad. Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre, por el que se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión.
- Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos.

- Real Decreto 2132/2004, de 29 de octubre, por el que se establecen los requisitos y procedimientos para solicitar el desarrollo de proyectos de investigación con células troncales obtenidas de preembriones sobrantes.
- Real Decreto 413/1996, de 1 de marzo, por el que se establecen los requisitos técnicos y funcionales precisos para la autorización y homologación de los centros y servicios sanitarios relacionados con las técnicas de reproducción humana asistida.
- Real Decreto 2070/1999, de 30 de diciembre, que regula la obtención y utilización clínica de órganos humanos para donación y trasplante.
- Real Decreto 65/2006, de 30 de enero, por el que se establecen requisitos para la importación y exportación de muestras biológicas.
- Orden SCO/393/2006, de 8 de febrero, por la que se establece la organización y funcionamiento del Banco Nacional de Líneas Celulares.

3.4.B. Otros documentos

- Asociación Médica Mundial. Declaración de Helsinki (última versión de 2004).
- Australia Law Reform Commission. Essentially yours: the protection of human genetic information in Australia. 2003 Mar.
- Comisión Europea. Dirección General de Investigación. Veinticinco recomendaciones sobre las repercusiones éticas, jurídicas y sociales de los test genéticos.
- Comisión Europea. Guía sobre la documentación que se debe presentar en el Comité Ético de Investigación Clínica para la aprobación del ensayo. Feb 2006.
- Comité Consultatif National D'éthique. Problèmes éthiques posés par les collections de matériel biologique et les données d'information associées: biobanques, biothèques. Avis Paris; núm. 77.
- Consejo de Europa. Recomendación núm. R (2006) 4 sobre investigación con material biológico de origen humano, de 15 de marzo de 2006.
- Consejo de Europa. Recomendación núm. R (97) 5, del Comité de Ministros, referente a la protección de datos médicos, de 13 de febrero de 1997.
- Detailed Guidance on the application format and documentation to be submitted in an application for an Ethics Committee opinion (version from April 2004) (http://eudract.emea.eu.int/docs/Detailed_guidance_Ethic_Committee.pdf). Accedido el 5 de diciembre de 2005.

- Detailed Guidance for the request for authorisation of a clinical trial to the competent authorities (http://eudract.emea.eu.int/docs/Detailed_guidance_CTA.pdf). Accedido el 5 de diciembre de 2005.
- European Group on Ethics in Science and New Technologies (EGE) to the European Commission. Ethical aspects on human tissue banking. 1998.
- European Group on Ethics in Science and New Technologies (EGE) to the European Commission. Opinion on the ethical aspects of umbilical cord blood banking. Opinion N° 19: Gunning J. A worldwide study of umbilical cord cell banking, consultant in bioethics and science affairs. Appendix: The secretariat of the European group on ethics. 2003 Jun.
- European Society of Human Genetics. Data storage and DNA banking for biomedical research: informed consent, confidentiality, quality issues, ownership, return of benefits. A professional perspective. 2000.
- European Society of Human Genetics, Data storage and DNA banking for biomedical research: technical, social and ethical issues. Recommendations of the European Society of Human Genetics. 2001.
- Human Genetics Commission. Balancing interests in the use of personal genetic data. London 2002 May.
- Le Réseau de Médecine Génétique Appliquée (RMGA). Énoncé de principes sur la conduite éthique de la recherche en génétique humaine concernant des populations. Canadá 2002.
- Martín Uranga A, Martín Ribas MC, Di Donato J-H, Posada de la Paz M. Las cuestiones ético-jurídicas más relevantes en relación con los biobancos. Una visión de la legislación de los Países miembros del proyecto EuroBioBank. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Sanidad. Madrid 2005.
- Medical Research Council. Good Research Practice. Medical Research Council Ethics Series. 2000 Dec.
- Medical Research Council. Human tissue and biological samples for use in research. London 2001.
- Medical Research Council. Personal Information in Medical Research. 2003 Jan.
- Medical Research Council. Interim guidance on ethics of research involving human material derived from the nervous system. 2003 Jun.
- Medical Research Council. Human Tissue Bill. Views of the Medical Research Council. Updated at the time of the Report Stage in the House of Commons. 2004 Jun 25th.

- National Bioethics Advisory Commission. Research involving human biological materials: ethical issues and policy guidance. Maryland 2000; vols. I y II.
- Nationaler Ethikrat, Alemania. Opinion: Biobanks for Research. 2004.
- Nuffield Council on Bioethics. Human tissue and biological samples for use in research. London 2001.
- Nuffield Council on Bioethics. Human Tissue. Ethical and Legal Issues. London 1995.
- Nuffield Council on Bioethics. Pharmacogenetics: Ethical Issues. London 2003.
- Organisation for Economic Co-Operation and Development. Biological resource centres 2001.
- Royal College of Physicians Committee on Ethical Issues in Medicine. Research based on archived information samples. Journal of the Royal College of Physicians of London 1999; vol. XXXIII: núm. 3.
- The European Agency for The Evaluation of Medicinal Products. Guideline for good clinical practice. 1996 May 1st. This guideline is recommended for adoption to the three regulatory parties to ICH (This document includes the Post Step 4 corrections agreed by the Steering Committee on 1996 Jun 10).
- UNESCO. Declaración Internacional sobre datos genéticos humanos. 16 de octubre de 2003.
- Unión Europea. Carta de Derechos Fundamentales. DOCE 18 de diciembre de 2000.

3.4.C. Bibliografía

- Alpert S. Privacy and the analysis of stores tissues. Research involving human biological materials: ethical issues and policy guidance (commissioned papers). National Bioethics Advisory Commission. Maryland 2000; vol. II.
- Angoitia Gorostiaga R. Extracción de órganos y tejidos de donantes vivos con fines de trasplante y prohibición de lucro y utilización de una parte del cuerpo humano. En: Romeo Casabona CM (ed.). El Convenio de Derechos Humanos y Biomedicina. Su entrada en vigor en el ordenamiento jurídico español. Cátedra Interuniversitaria, Fundación BBVA, Diputación Foral de Bizkaia de Derecho y Genoma Humano, Universidad de Deusto, Universidad del País Vasco/EHU, Editorial Comares Bilbao, Granada 2002.
- Annas G, *et al.* Drafting the Genetic Privacy Act: Science, Policy and Practical Considerations. Journal of Law, Medicine and Ethics 1995; vol. XXIII: núm. 4.
- Annas GJ, Glantz LH, Roche PA. The genetic privacy act and commentary. Health Law Department, Boston University School of Public Health. Boston 1995.

- Armitage E, Davis I. Patents and morality in perspective. Common Law Institute of Intellectual Property. Londres 1994.
- Beyleveld D, Brownsword R, Llewelyn M. The morality clauses of the Directive on the legal protection of biotechnological inventions: conflict, compromise and the patent community. En: Goldberg R, Lonbay J (ed.). Pharmaceutical medicine, biotechnology and european law. Cambridge University Press 2000.
- Beyleveld D. Regulating morality through patent law. Critique of the EC Directive. Revista de Derecho y Genoma Humano, enero-junio 2000: núm. 12.
- Beyleveld D (ed.). Data Protective Directive and Medical Research Across Europe. Ashgate 2004.
- Buchanan A. An ethical framework for biological samples policy. Research involving human biological materials: ethical issues and policy guidance (commissioned papers). National Bioethics Advisory Commission. Maryland 2000; vol. II.
- Crespi RS. Biotechnology patents and morality. TIBTECH abril 1997; vol. XV.
- Dworkin G, Kennedy I. Human tissue: rights in the body and its parts. Medical Law Review 1993: núm. 1.
- Fondacaro JD. Protecting patients' rights in the licensing of human cells. Patent world 2001 Oct: núm. 136.
- Furness P. Consent to using human tissue. British Medical Journal 2003: núm. 327.
- Gascon S. L'utilisation médicale et la commercialisation du corps humain. Les Editions Yvon Blais, Inc. Québec 1993.
- Hair JF, McNicol AM, Gusterson BA. Editorial Comment. Is research on human tissues at a crossroads? European Journal of Cancer 2003: núm. 39: 2253-5.
- Hoffmaster B. Between the sacred and the profane: bodies, property and patents in the Moore case. Intellectual Property Journal 1992; vol. VII.
- Holland N, *et al.* Biological sample collection and processing for molecular epidemiological studies. Mutation Research 2003: núm. 543.
- Hottois G. Banque de tissus humains. Dans: Hottois G, Nissa J-N (dir.). Nouvelle encyclopédie de bioéthique. Bruxelles: De Boeck 2001.
- King D. DNA banks and the future of medical research. Gen-Ethics 1998 Oct.
- Knoppers BM, Hirtle M. Bancos de materiales humanos, derechos de propiedad intelectual y cuestiones relativas a la titularidad: nuevas tendencias en la literatura

científica y posiciones en la normativa internacional. *Revista de Derecho y Genoma Humano* 1996 y 1997; vol. I y II: núm. 5 y 6.

- Knoppers BM, Nguyen MT. Stored tissue samples: through the confidentiality maze. *The Pharmacogenomics Journal* 2005: núm. 5.
- Martin P, Kaye J. *The use of biological sample collections and personal medical information in human genetics research*. London: The Wellcome Trust 1999.
- Martín Uranga A. *La protección jurídica de las innovaciones biotecnológicas. Especial consideración de su protección penal*. Granada: Ed. Comares 2003.
- Nicolás P. Los derechos de los pacientes sobre su muestra biológica. Distintas opiniones jurisprudenciales. *Revista de Derecho y Genoma Humano* 2003: núm. 19.
- Otero Lastres JM. *La patentabilidad del material genético humano en el Derecho español vigente. El Derecho ante el Proyecto Genoma Humano* Ed. Fundación BBVA Bilbao 1994; vol. II.
- Pérez Bustamante G. *Patentes de invenciones biotecnológicas: un análisis jurídico-económico*. *Revista de Derecho y Genoma Humano* 1998: núm. 8.
- Quintana O. *La patentabilidad de las invenciones biotecnológicas: consideraciones éticas*. En: Casado M, González-Duarte R (ed.). *Los retos de la genética en el siglo XXI: genética y bioética*. Ediciones Universidad de Barcelona 1999.
- Romeo Casabona CM. *Anonymization and Pseudonymization: The Legal Framework at European Level*. En: *The Data Protection Directive and medical research across Europe*. Ashgate 2004.
- Romeo Casabona CM. *La protección jurídica del genoma humano y de las innovaciones biotecnológicas: la cuestión de su patentabilidad*. Comunicaciones IDEI. Diez conferencias magistrales sobre nuevas tecnologías y propiedad industrial. Núm. extraordinario 2001: 80-81.
- Romeo Casabona CM. *Los genes y sus leyes. El derecho ante el genoma humano*. Cátedra Interuniversitaria, Fundación BBVA, Diputación Foral de Bizkaia de Derecho y Genoma Humano, Universidad de Deusto, Universidad del País Vasco/EHU Comares, Bilbao, Granada 2002.
- Romeo Casabona CM. *Uso y abuso de las muestras biológicas*. *Jano* 2003; vol. LXIV: núm. 1.473.
- Sild T, Mullari T. *Population based genetic research: estonian answer to the legal challenge*. *European Journal of Health Law* 2001: núm. 8.
- Skene L. *Ownership of human tissue and the law*. *Nature Reviews Genetics* 2002; 3: 145.

- Smaglik P. Tissue donors use their influence in deal over gene patent terms. *Nature* 2000; núm. 407.
- Soler Matutes P, Sánchez Molero J. La patente de genes humanos: examen especial de la propuesta de directiva comunitaria relativa a la protección jurídica de las invenciones biotecnológicas. *La Ley* dic 1998.
- Tallacchini M. El cuerpo y sus partes. La ubicación jurídica de los materiales biológicos humanos. *Medicina y Ética* enero-marzo 1999; vol. X: núm. 1.
- Teodorovica I, Therasseb P, Spatzc A, Isabelled M, Oosterhuis W. Position Paper. Human tissue research: EORTC recommendations on its practical consequences. *European Journal of Cancer* 2003; 39: 2256-2263.
- Zarraluqui Sánchez-Eznarriaga L. La naturaleza jurídica de los elementos genéticos. *Revista General de Derecho* 1986; vol. XLII: núm. 2.

- Real Decreto 411/1996, de 1 de marzo, por el que se regulan las actividades relativas a la utilización de tejidos humanos (BOE núm. 72, de 23 de marzo de 1996).
- Real Decreto 55/2002, de 18 de enero, sobre explotación y cesión de invenciones realizadas en los entes públicos de investigación, de conformidad con lo establecido en el artículo 20 de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes (BOE núm. 26, de 30 de enero de 2002).
- Real Decreto 62/2003, de 17 de enero, por el que se modifica el Real Decreto 1945/1985, de 9 de octubre, por el que se regula la hemodonación y los bancos de sangre (BOE núm. 25, de 29 de enero de 2003).
- Directiva 2004/23/CE, de 31 de marzo de 2004, sobre establecimiento de normas de calidad y de seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos.
- Directiva 2001/20/CE, de 4 de abril de 2001, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros sobre la aplicación de buenas prácticas clínicas en la realización de ensayos clínicos de medicamentos de uso humano.
- Directiva 95/46/CE, de 24 de octubre de 1995, relativa a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de esos datos.
- Acuerdo europeo sobre transporte internacional de mercancías peligrosas por carretera. ADR 2003 (Suplemento de BOE núm. 33, de 7 de febrero de 2003).
- Instrucciones técnicas para la seguridad en el transporte aéreo de mercancías peligrosas de la Organización Internacional de Aviación Civil (ICAO). Montreal: Asociación Internacional de Transporte Aéreo. IATA-DGR 2002.
- Reglamento de Transporte Internacional por Ferrocarril de Mercancías Peligrosas (RID). Contrato de transporte internacional por ferrocarril de las mercancías (CIM o COTIF 1997). 1 de febrero de 2003.
- Código Internacional de Transporte Marítimo de Mercancías Peligrosas (IMDG). International Maritime Organization (IMO). Londres 1995.
- Ley 14/1986, de 25 de abril, General de Sanidad. Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre, por el que se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión.
- Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos.

- Real Decreto 2132/2004, de 29 de octubre, por el que se establecen los requisitos y procedimientos para solicitar el desarrollo de proyectos de investigación con células troncales obtenidas de preembriones sobrantes.
- Real Decreto 413/1996, de 1 de marzo, por el que se establecen los requisitos técnicos y funcionales precisos para la autorización y homologación de los centros y servicios sanitarios relacionados con las técnicas de reproducción humana asistida.
- Real Decreto 2070/1999, de 30 de diciembre, que regula la obtención y utilización clínica de órganos humanos para donación y trasplante.
- Real Decreto 65/2006, de 30 de enero, por el que se establecen requisitos para la importación y exportación de muestras biológicas.
- Orden SCO/393/2006, de 8 de febrero, por la que se establece la organización y funcionamiento del Banco Nacional de Líneas Celulares.

3.4.B. Otros documentos

- Asociación Médica Mundial. Declaración de Helsinki (última versión de 2004).
- Australia Law Reform Commission. Essentially yours: the protection of human genetic information in Australia. 2003 Mar.
- Comisión Europea. Dirección General de Investigación. Veinticinco recomendaciones sobre las repercusiones éticas, jurídicas y sociales de los test genéticos.
- Comisión Europea. Guía sobre la documentación que se debe presentar en el Comité Ético de Investigación Clínica para la aprobación del ensayo. Feb 2006.
- Comité Consultatif National D'éthique. Problèmes éthiques posés par les collections de matériel biologique et les données d'information associées: biobanques, biothèques. Avis Paris; núm. 77.
- Consejo de Europa. Recomendación núm. R (2006) 4 sobre investigación con material biológico de origen humano, de 15 de marzo de 2006.
- Consejo de Europa. Recomendación núm. R (97) 5, del Comité de Ministros, referente a la protección de datos médicos, de 13 de febrero de 1997.
- Detailed Guidance on the application format and documentation to be submitted in an application for an Ethics Committee opinion (version from April 2004) (http://eudract.emea.eu.int/docs/Detailed_guidance_Ethic_Committee.pdf). Accedido el 5 de diciembre de 2005.

- Detailed Guidance for the request for authorisation of a clinical trial to the competent authorities (http://eudract.emea.eu.int/docs/Detailed_guidance_CTA.pdf). Accedido el 5 de diciembre de 2005.
- European Group on Ethics in Science and New Technologies (EGE) to the European Commission. Ethical aspects on human tissue banking. 1998.
- European Group on Ethics in Science and New Technologies (EGE) to the European Commission. Opinion on the ethical aspects of umbilical cord blood banking. Opinion N° 19: Gunning J. A worldwide study of umbilical cord cell banking, consultant in bioethics and science affairs. Appendix: The secretariat of the European group on ethics. 2003 Jun.
- European Society of Human Genetics. Data storage and DNA banking for biomedical research: informed consent, confidentiality, quality issues, ownership, return of benefits. A professional perspective. 2000.
- European Society of Human Genetics, Data storage and DNA banking for biomedical research: technical, social and ethical issues. Recommendations of the European Society of Human Genetics. 2001.
- Human Genetics Commission. Balancing interests in the use of personal genetic data. London 2002 May.
- Le Réseau de Médecine Génétique Appliquée (RMGA). Énoncé de principes sur la conduite éthique de la recherche en génétique humaine concernant des populations. Canadá 2002.
- Martín Uranga A, Martín Ribas MC, Di Donato J-H, Posada de la Paz M. Las cuestiones ético-jurídicas más relevantes en relación con los biobancos. Una visión de la legislación de los Países miembros del proyecto EuroBioBank. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Sanidad. Madrid 2005.
- Medical Research Council. Good Research Practice. Medical Research Council Ethics Series. 2000 Dec.
- Medical Research Council. Human tissue and biological samples for use in research. London 2001.
- Medical Research Council. Personal Information in Medical Research. 2003 Jan.
- Medical Research Council. Interim guidance on ethics of research involving human material derived from the nervous system. 2003 Jun.
- Medical Research Council. Human Tissue Bill. Views of the Medical Research Council. Updated at the time of the Report Stage in the House of Commons. 2004 Jun 25th.

- National Bioethics Advisory Commission. Research involving human biological materials: ethical issues and policy guidance. Maryland 2000; vols. I y II.
- Nationaler Ethikrat, Alemania. Opinion: Biobanks for Research. 2004.
- Nuffield Council on Bioethics. Human tissue and biological samples for use in research. London 2001.
- Nuffield Council on Bioethics. Human Tissue. Ethical and Legal Issues. London 1995.
- Nuffield Council on Bioethics. Pharmacogenetics: Ethical Issues. London 2003.
- Organisation for Economic Co-Operation and Development. Biological resource centres 2001.
- Royal College of Physicians Committee on Ethical Issues in Medicine. Research based on archived information samples. Journal of the Royal College of Physicians of London 1999; vol. XXXIII: núm. 3.
- The European Agency for The Evaluation of Medicinal Products. Guideline for good clinical practice. 1996 May 1st. This guideline is recommended for adoption to the three regulatory parties to ICH (This document includes the Post Step 4 corrections agreed by the Steering Committee on 1996 Jun 10).
- UNESCO. Declaración Internacional sobre datos genéticos humanos. 16 de octubre de 2003.
- Unión Europea. Carta de Derechos Fundamentales. DOCE 18 de diciembre de 2000.

3.4.C. Bibliografía

- Alpert S. Privacy and the analysis of stores tissues. Research involving human biological materials: ethical issues and policy guidance (commissioned papers). National Bioethics Advisory Commission. Maryland 2000; vol. II.
- Angoitia Gorostiaga R. Extracción de órganos y tejidos de donantes vivos con fines de trasplante y prohibición de lucro y utilización de una parte del cuerpo humano. En: Romeo Casabona CM (ed.). El Convenio de Derechos Humanos y Biomedicina. Su entrada en vigor en el ordenamiento jurídico español. Cátedra Interuniversitaria, Fundación BBVA, Diputación Foral de Bizkaia de Derecho y Genoma Humano, Universidad de Deusto, Universidad del País Vasco/EHU, Editorial Comares Bilbao, Granada 2002.
- Annas G, *et al.* Drafting the Genetic Privacy Act: Science, Policy and Practical Considerations. Journal of Law, Medicine and Ethics 1995; vol. XXIII: núm. 4.
- Annas GJ, Glantz LH, Roche PA. The genetic privacy act and commentary. Health Law Department, Boston University School of Public Health. Boston 1995.

- Armitage E, Davis I. Patents and morality in perspective. Common Law Institute of Intellectual Property. Londres 1994.
- Beyleveld D, Brownsword R, Llewelyn M. The morality clauses of the Directive on the legal protection of biotechnological inventions: conflict, compromise and the patent community. En: Goldberg R, Lonbay J (ed.). Pharmaceutical medicine, biotechnology and european law. Cambridge University Press 2000.
- Beyleveld D. Regulating morality through patent law. Critique of the EC Directive. Revista de Derecho y Genoma Humano, enero-junio 2000: núm. 12.
- Beyleveld D (ed.). Data Protective Directive and Medical Research Across Europe. Ashgate 2004.
- Buchanan A. An ethical framework for biological samples policy. Research involving human biological materials: ethical issues and policy guidance (commissioned papers). National Bioethics Advisory Commission. Maryland 2000; vol. II.
- Crespi RS. Biotechnology patents and morality. TIBTECH abril 1997; vol. XV.
- Dworkin G, Kennedy I. Human tissue: rights in the body and its parts. Medical Law Review 1993: núm. 1.
- Fondacaro JD. Protecting patients' rights in the licensing of human cells. Patent world 2001 Oct: núm. 136.
- Furness P. Consent to using human tissue. British Medical Journal 2003: núm. 327.
- Gascon S. L'utilisation médicale et la commercialisation du corps humain. Les Editions Yvon Blais, Inc. Québec 1993.
- Hair JF, McNicol AM, Gusterson BA. Editorial Comment. Is research on human tissues at a crossroads? European Journal of Cancer 2003: núm. 39: 2253-5.
- Hoffmaster B. Between the sacred and the profane: bodies, property and patents in the Moore case. Intellectual Property Journal 1992; vol. VII.
- Holland N, *et al.* Biological sample collection and processing for molecular epidemiological studies. Mutation Research 2003: núm. 543.
- Hottois G. Banque de tissus humains. Dans: Hottois G, Nissa J-N (dir.). Nouvelle encyclopédie de bioéthique. Bruxelles: De Boeck 2001.
- King D. DNA banks and the future of medical research. Gen-Ethics 1998 Oct.
- Knoppers BM, Hirtle M. Bancos de materiales humanos, derechos de propiedad intelectual y cuestiones relativas a la titularidad: nuevas tendencias en la literatura

científica y posiciones en la normativa internacional. *Revista de Derecho y Genoma Humano* 1996 y 1997; vol. I y II: núm. 5 y 6.

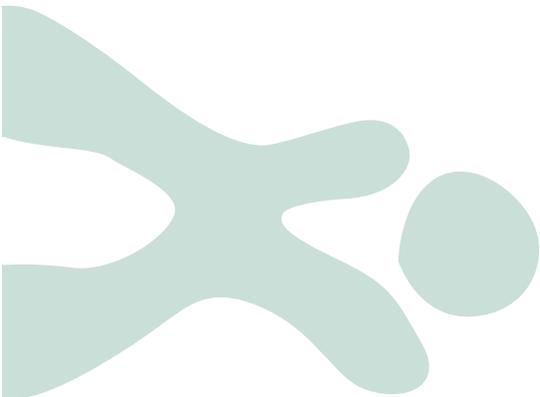
- Knoppers BM, Nguyen MT. Stored tissue samples: through the confidentiality maze. *The Pharmacogenomics Journal* 2005: núm. 5.
- Martin P, Kaye J. *The use of biological sample collections and personal medical information in human genetics research*. London: The Wellcome Trust 1999.
- Martín Uranga A. *La protección jurídica de las innovaciones biotecnológicas. Especial consideración de su protección penal*. Granada: Ed. Comares 2003.
- Nicolás P. Los derechos de los pacientes sobre su muestra biológica. Distintas opiniones jurisprudenciales. *Revista de Derecho y Genoma Humano* 2003: núm. 19.
- Otero Lastres JM. *La patentabilidad del material genético humano en el Derecho español vigente. El Derecho ante el Proyecto Genoma Humano* Ed. Fundación BBVA Bilbao 1994; vol. II.
- Pérez Bustamante G. *Patentes de invenciones biotecnológicas: un análisis jurídico-económico*. *Revista de Derecho y Genoma Humano* 1998: núm. 8.
- Quintana O. *La patentabilidad de las invenciones biotecnológicas: consideraciones éticas*. En: Casado M, González-Duarte R (ed.). *Los retos de la genética en el siglo XXI: genética y bioética*. Ediciones Universidad de Barcelona 1999.
- Romeo Casabona CM. *Anonymization and Pseudonymization: The Legal Framework at European Level*. En: *The Data Protection Directive and medical research across Europe*. Ashgate 2004.
- Romeo Casabona CM. *La protección jurídica del genoma humano y de las innovaciones biotecnológicas: la cuestión de su patentabilidad*. Comunicaciones IDEI. Diez conferencias magistrales sobre nuevas tecnologías y propiedad industrial. Núm. extraordinario 2001: 80-81.
- Romeo Casabona CM. *Los genes y sus leyes. El derecho ante el genoma humano*. Cátedra Interuniversitaria, Fundación BBVA, Diputación Foral de Bizkaia de Derecho y Genoma Humano, Universidad de Deusto, Universidad del País Vasco/EHU Comares, Bilbao, Granada 2002.
- Romeo Casabona CM. *Uso y abuso de las muestras biológicas*. *Jano* 2003; vol. LXIV: núm. 1.473.
- Sild T, Mullari T. *Population based genetic research: estonian answer to the legal challenge*. *European Journal of Health Law* 2001: núm. 8.
- Skene L. *Ownership of human tissue and the law*. *Nature Reviews Genetics* 2002; 3: 145.

- Smaglik P. Tissue donors use their influence in deal over gene patent terms. *Nature* 2000; núm. 407.
- Soler Matutes P, Sánchez Molero J. La patente de genes humanos: examen especial de la propuesta de directiva comunitaria relativa a la protección jurídica de las invenciones biotecnológicas. *La Ley* dic 1998.
- Tallacchini M. El cuerpo y sus partes. La ubicación jurídica de los materiales biológicos humanos. *Medicina y Ética* enero-marzo 1999; vol. X: núm. 1.
- Teodorovica I, Therasseb P, Spatzc A, Isabelled M, Oosterhuis W. Position Paper. Human tissue research: EORTC recommendations on its practical consequences. *European Journal of Cancer* 2003; 39: 2256-2263.
- Zarraluqui Sánchez-Eznarriaga L. La naturaleza jurídica de los elementos genéticos. *Revista General de Derecho* 1986; vol. XLII: núm. 2.



GUÍA PRÁCTICA

**para la
utilización
de muestras
biológicas en
Investigación
Biomédica**



ESQUEMAS

- 1. Obtención**
- 2. Preparación de las muestras**
- 3. Conservación**
- 4. Circulación**
- 5. Cesión**
- 6. Procesamiento/flujo y circuito de uso de la muestra**
- 7. Prácticas de seguridad**
- 8. Explotación**
- 9. Gestión de calidad**
- 10. Gestión de bases de datos**
- 11. Intervención de los Comités Éticos de Investigación Clínica**

1. Obtención

1. Procedimientos técnicos

TEJIDOS (incluyendo sangre periférica) Y TUMORES

Toma de muestras

- La toma de muestras no puede interferir en los fines primordiales del sujeto.
- La realizará una persona cuya capacitación lo garantice.
- La toma se realizará garantizando la calidad del procedimiento.
- Se deberían recoger y manipular en condiciones de esterilidad.

Traslado

- Es recomendable un traslado inmediato desde el lugar de obtención hasta el servicio donde se realizará la toma de la parte de la muestra excedente de diagnóstico para su archivo en el banco de tejidos.
- Esto requiere la coordinación con el personal que realizará el traslado de las muestras.
- Se debe establecer un máximo de tiempo desde la extracción a la congelación y/o procesamiento.
- Toda muestra que haya tardado más de dos horas y haya estado a temperatura ambiente debe ser descartada.
- En caso de extraer ARN, el estándar de calidad es de menos de 30 minutos.

1. Procedimientos técnicos

CÉLULAS

Líneas celulares

- Es más aconsejable trabajar con líneas celulares pero, en ocasiones, es preciso trabajar con células *ex vivo*.
- Para obtener líneas celulares: generación directa, colecciones o cesión de otro laboratorio.

Células *ex vivo*

-
- Obtener una suspensión de células individualizadas.
 - La suspensión de células individualizada se debe preparar, en el caso de tejidos sólidos, por métodos físicos o enzimáticos.
 - Obtenida la suspensión celular del tejido, se aíslan o enriquecen las células de interés a través de métodos físicos (centrifugaciones), parámetros fisiológicos, técnicas de inmunomarcaje o microdissección por láser.

1. Procedimientos técnicos

FLUIDOS

Tipos

- **Pleural:** punción pleural.
- **Pericárdico:** punción cardíaca.
- **Ascítico:** punción peritoneal.
- **Cefalorraquídeo:** punción lumbar.
- **Sinovial:** punción articular.

Condiciones de obtención

- Se debe **garantizar la estabilidad de las propiedades biológicas de la muestra en la fase preanalítica** a través de la formación del personal y la calidad del proceso.
- Para medir ciertas magnitudes se deben observar determinadas **condiciones basales**.
- Se deben observar ciertas **condiciones en la extracción:** punción limpia, medios técnicos adecuados, asegurar la mezcla de la sangre con el anticoagulante.
- **Se debe evitar la contaminación** por soluciones de infusión intravenosa, que es la forma de interferencia más común.

2. El respeto de los derechos de los pacientes

EL SUJETO DEBE CONSENTIR LA INTERVENCIÓN CORPORAL

Obtención con fin exclusivo de investigación

- No puede representar un riesgo significativo para la salud.
- El consentimiento debe precederse de información sobre la intervención.

Obtención con finalidad clínica

- Los riesgos serán los asumidos en función de la indicación clínica que motiva la intervención.
- Es suficiente el consentimiento a la intervención clínica.

EL SUJETO DEBE CONSENTIR SU UTILIZACIÓN EN INVESTIGACIÓN

En general

- El consentimiento debe estar precedido de información sobre las circunstancias del uso posterior.
- El consentimiento es revocable. Los efectos de la revocación (anonimización o destrucción) se deben prever en el documento de consentimiento.

En caso de fallecidos

- Se pueden extraer muestras de cadáveres con fines de investigación biomédica si no consta oposición del sujeto.
- Las muestras de fallecidos, obtenidas sin consentimiento expreso, deben anonimizarse.

3. La gratuidad

EL SUJETO NO DEBE RECIBIR CONTRAPRESTACIÓN

- Tampoco se podrá cobrar una contraprestación cuando las muestras procedan de colecciones de otros investigadores, pero sí se podrá exigir el pago de los gastos de transporte y de conservación de la muestra.

2. Preparación de las muestras

1. Procedimientos técnicos

TEJIDOS Y TUMORES

Aspectos generales

- Cualquier tipo de muestra ha de ser manipulada siempre que sea posible en condiciones de esterilidad: guantes, tijeras, pinzas, base limpia de trabajo a poder ser en campana de flujo laminar, cuchillas de bisturí y otros materiales desechables, etc.
- En el caso de tumores, el manejo y el tallado de los mismos siempre ha de ser realizado por el patólogo, de forma ideal, tomando dos muestras de dos áreas macroscópicas diferentes, y al menos una de tejido normal.
- Puede interesar recoger además otras muestras: plasma, LCR, etc., que en general deben ser procesados como las muestras de células en suspensión.

Según el tipo de muestra

Resección completa

- Se debe seccionar la neoplasia a lo largo del diámetro máximo, y de cada una de ellas a su vez se harán otras cuatro partes:
 - Para realizar estudios de FISH y citometría estática.
 - Para congelarlas con nitrógeno líquido y almacenarlas a -70 °C antes de su uso para estudios biológicos.
 - Para suspensiones celulares.
 - Para estudio histológico convencional.

Neoplasias irresecables

- **Biopsias a cielo abierto:** se han de procesar siguiendo el modelo explicado en el apartado anterior.
- **Biopsias del tipo *tru-cut*:** preferentemente, deberán ser obtenidos cuatro fragmentos de áreas tumorales diferentes con una aguja del tamaño 18 G.
- **PAAF:** se recomienda en general realizar dos punciones separadas con un tamaño de aguja de 0,6-0,7 mm (22-23 gauge) y, dependiendo de la cantidad del aspirado, una gota se colocará en cuatro portaobjetos, realizando extensiones que se secan al aire.

Sangre periférica y aspirados de MO

- Se deben recoger en tubos estériles que contengan un anticoagulante suficiente y adecuado para permitir la posterior realización de los estudios de investigación necesarios.

1. Procedimientos técnicos

CÉLULAS

Cultivo primario

- Son células obtenidas *ex vivo* y puestas en condiciones de cultivo.
- Son inicialmente heterogéneos.
- Pueden ser mantenidos *in vitro* por un tiempo limitado.
- A largo plazo, el cultivo se llena de las células presentes en la muestra que mejor crecen en las condiciones del cultivo.

Cultivo continuo

- Capacidad de proliferación más larga o ilimitada.
- Establecido con células que muestran mayor capacidad de renovación o aquellas que son “inmortalizadas” mediante transformación por tratamiento químico o infección viral, o células troncales embrionarias.

Subcultivo

Células adherentes

- Para iniciar un subcultivo, es necesario despegar las células, digiriéndolas con tripsina para convertirlas temporalmente en células en suspensión.

Células en suspensión

- Una vez alcanzada una alta densidad y, antes de que el medio se acidifique en exceso, deben ser centrifugadas, contadas y sembradas a la densidad adecuada, según el tipo celular, en un medio fresco precalentado.

Condiciones de cultivo

- **Evaluación de:**
 - Temperatura y atmósfera del incubador.
 - Sustrato de adhesión en el caso de cultivos adherentes.
 - Tipo de medio de cultivo y pH.
 - Materiales óptimos.
- **Esterilidad:** cabina de flujo laminar, desinfección de superficies, etc.
- Las muestras de líquidos biológicos se deben procesar **antes de las dos horas de su extracción**.
- La muestra a almacenar en el biobanco se obtiene, en la mayoría de los casos, mediante la **centrifugación** del espécimen, que se puede realizar a **altas revoluciones** o a **bajas revoluciones**, según el tipo de magnitud a analizar.
- A su vez, la centrifugación se puede llevar a cabo a **temperatura baja (4-6 °C)** o por el contrario **sin refrigerar**. En este último caso, y teniendo en cuenta que el proceso de centrifugación incrementa la temperatura, es necesario asegurar que la temperatura de la centrifuga no supere en ningún momento los 25 °C, para evitar el deterioro de las muestras a analizar.

1. Procedimientos técnicos

ADN

Aspectos generales

- La extracción y preparación del ADN se ha de realizar a partir de **células nucleadas** de muestras de una gran variedad de fuentes.
- El objetivo ha de ser obtener **la máxima cantidad de ADN, así como una óptima calidad y pureza.**
- Las personas que realicen este tipo de trabajo pueden ser técnicos de laboratorio que han de **estar entrenados en técnicas de Biología Molecular.**

Sangre periférica

- Procesarla a poder ser no más tarde de las 24 horas tras haberla extraído, sin haber separado sus componentes y sin coagular, lo que se consigue colocándola en tubos con EDTA.

Otros tipos de muestras

(sangre seca, células epiteliales bucales, tumor sólido, MO, etc.)

- Lo ideal es que el **tejido llegue al laboratorio en fresco y se extraiga el ADN de inmediato**, pero también se puede congelar hasta la extracción bien a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, bien en nitrógeno líquido. También se consigue aislar ADN de manera satisfactoria, a partir de especímenes patológicos históricos conservados en **parafina o en formol.**

Protocolo de extracción

- **Ha de incluir:**
 - Lisis de células.
 - Incubación con una proteinasa.
 - Separación del ADN del resto de constituyentes.
 - Precipitación del ADN (sal o etanol frío).
 - Disolución con agua o té para su congelación.

- **Para la extracción de ADN de tejidos:**
 - Procesos preliminares para romper el tejido en trozos finos.
- **Para la extracción de tejidos embebidos en parafina:**
 - Realización previa de secciones con un microtomo o un microdisector láser.
 - Desparafinación del tejido mediante un tratamiento con xileno.
- **En el caso de querer almacenar mucha muestra de ADN:**
 - Inmortalizar previamente las células sanguíneas con el virus Epstein-Barr.
 - En el caso de tejidos, **cultivar** si la muestra es fresca y no muy grande.

1. Procedimientos técnicos

ARN

Aspectos generales

- Tener en cuenta la **facilidad de degradación enzimática** de esta molécula por medio de ribonucleasas: todo el material que entre en contacto con la muestra debe estar libre de RNAsas y completamente esterilizado.
- Como precaución adicional, es bueno, además, que todos los materiales y soluciones hayan sido tratados con inhibidores de las RNAsas, como el dietil pirocarbonato (DEPC) al 0,1%.
- **Evitar la contaminación por ADN**, lo que se consigue separando, en el laboratorio, la zona de trabajo del ADN de la del ARN; incubando con DNAsas las muestras y utilizando utensilios y materiales sólo para el ARN.
- Lo aconsejable hoy día es aislar el ARN a partir de la obtención de unos botones celulares lo más limpios posibles, con algún kit comercializado a tal efecto, para asegurar las extremas condiciones de seguridad necesarias descritas.

Tejidos líquidos

- Han de estar anticoagulados a poder ser en anticoagulantes con estabilizadores del ARN.

Tejidos sólidos

- Hacer la extracción de ARN de inmediato o congelar el mismo antes de la extracción, ambos procedimientos en un plazo no superior a los 30 minutos desde la obtención de la muestra.

2. El respeto de los derechos de los pacientes

EL SUJETO DEBE CONSENTIR LA OBTENCIÓN Y LA UTILIZACIÓN

Aspectos generales

- Este consentimiento podrá prestarse junto con el que corresponde a la extracción o con posterioridad a la extracción en otro documento.
- Esta manifestación de voluntad **deberá ser expresa** como cuando se trata de muestras que pueden asociarse a un individuo, es decir, muestras identificadas o identificables.
- En general, el material se podrá utilizar **sin consentimiento expreso en el caso de muestras anónimas** y, en el caso de muestras identificables, cuando el CEIC lo estime procedente.
- Como regla general, **el consentimiento es revocable**. Si el sujeto fuente decide que su muestra no se siga utilizando para fines de investigación, ésta puede ser, o bien destruida, o bien anonimizada.
- Los **efectos de la revocación** dependerán de lo convenido en el documento de consentimiento; es decir, allí debe constar si, en este supuesto, la muestra se destruye o anonimiza.

3. Conservación

1. Procedimientos técnicos

TEJIDOS Y ÓRGANOS

Sistemas y formatos

- Los sistemas y formatos de archivos de las muestras son variados, dependen del objetivo de su colecta. Es recomendable disponer de muestras en diferentes formatos.

Condiciones de conservación

- La organización y acceso a las muestras es un factor muy importante a considerar.
- Los archivos a **temperatura ambiente** (improntas, extensiones y tejidos incluidos en parafina fundamentalmente) deben evitar la exposición a la luz, el polvo y los cambios de temperatura.
- Para archivar muestras a **bajas temperaturas** se recomiendan arcones a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y/o congeladores de nitrógeno líquido. Todos los sistemas deben estar dotados de un adecuado sistema de seguridad (alarma de temperatura, fluido eléctrico, etc.). **Recomendación general para todo tipo de muestra.**

Identificación

- Se recomienda un sistema de etiquetado de código de barra/puntos. El sistema elegido debe permitir en todo momento la seguridad en la rápida y certera identificación de la muestra. Recomendación general para todo tipo de muestra.

1. Procedimientos técnicos

ADN Y ARN

Condiciones de conservación

- Las muestras de ADN preferiblemente se deben almacenar por debajo de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Una buena congelación y almacenamiento de ARN son críticos para que mantenga su integridad. Se tiene que almacenar, al menos, a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Su congelación es recomendable hacerla en agua destilada ultrapura que contenga un inhibidor eficaz de las RNAsas.

CÉLULAS

Condiciones de conservación

- Para realizar un procedimiento adecuado y eficaz se recomienda una **congelación** celular lenta.
- El **almacenamiento** en contenedores de nitrógeno líquido o gaseoso.
- La **descongelación** se debe realizar en un baño a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$.

FLUIDOS

Condiciones de conservación

- Las características de conservación de los fluidos pueden cambiar según su destino de estudio.
- En general, se recomienda la **congelación** rápida y el almacenamiento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- La **descongelación** se debe realizar en un baño a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2. El respeto de los derechos de los pacientes

Aspectos generales

- Se debe establecer si se va a trabajar con datos anónimos o datos atribuibles a personas (identificadas o identificables).
- En todo momento, se debe tener presente la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal (LOPD).
- Existe el derecho del sujeto al acceso de todos sus datos obtenidos.
- El periodo de conservación de la muestra queda determinado por el cumplimiento de la finalidad para la que se recogió.

Obligatoriedad de confidencialidad

- Existe obligatoriedad de confidencialidad y la ruptura del deber de secreto puede representar un delito.
- Cuando se obtiene un dato que a juicio del profesional debe ser conocido por los familiares del paciente, es éste quien tiene el deber moral de comunicárselo. En situaciones excepcionales, cuando la omisión de información pudiera causar un grave perjuicio, quedaría justificada la ruptura del secreto.

Derecho a no saber

- Se debe considerar el “derecho a no saber”. Para ello, cuando se solicite el consentimiento informado, se debe preguntar si el sujeto desea ser informado de posibles hallazgos inesperados, así como de las posibles repercusiones para sus familiares.

4. Circulación

1. Aspectos técnicos

LEGISLACIÓN APLICABLE

- Todos los laboratorios que reciban o envíen muestras deben garantizar, como elementos básicos, las tres premisas siguientes:
 - Identificación y garantía de trazabilidad de las muestras y las solicitudes.
 - Formación adecuada del personal que debe manipular y transportar las muestras para garantizar sus características originales.
 - Definición de las condiciones de preparación, manipulación y transporte que requiere cada tipo de muestra.

Europa

- La mayor parte de las muestras biológicas se transportan por avión, excepto en los viajes muy cortos.
- No obstante, la muestra se suele transportar por carretera al final del viaje aéreo, de modo que cada envío tendrá que cumplir las normas locales de transporte por carretera. Las compañías de mensajería conocen dichas normas y podrán asesorar en cada caso.
- Para el **transporte aéreo**, las normas correspondientes de obligado cumplimiento son las Instrucciones Técnicas de la ICAO (*International Civil Aviation Organization*), aunque se tiende a utilizar las Normas de Mercancías Peligrosas de la Asociación de Transporte Aéreo Internacional (IATA).
- Se pueden, además, encontrar normas locales propias de cada país, cuya existencia se deberá comprobar antes de realizar los envíos.
- Para el **transporte por carretera**, la mayoría de los países utilizan las normas ADR (*Accord Dangereux Routier*).

EE.UU.

- Los EE.UU. tienen un conjunto de normas completamente distinto del resto del mundo.
- Sus normas son las 49 CFR, que significa Código de Normas Federales.
- Las 49 CFR cubren el transporte aéreo y por carretera o autopista, aunque en la mayoría de los casos las normas 49 CFR son las mismas que las de la IATA, esto se deberá tener en consideración si se desean enviar muestras a los EE.UU.

1. Aspectos técnicos

ENVÍO

1. Identificar con exactitud qué es lo que vamos a enviar.
2. Acondicionamiento de la muestra.
3. Acordar con las mensajerías especializadas los tiempos y la forma de solicitud de los envíos.

Identificación

- **Clases** según el tipo de peligro (desarrollado por Naciones Unidas).
- **Número UN.**
- **Nombre correcto de envío:** texto oficial que se encuentra en las normas de mercancías peligrosas de la IATA junto con el número UN.
- **Asterisco al final** del nombre correcto del envío. Indica que se debe incluir un nombre técnico adicional para completar el nombre correcto del envío.

Clasificación

- **Categoría A:** aquellas sustancias infecciosas que se transportan de forma que, cuando ocurra una exposición accidental, puedan causar incapacidad permanente, amenacen la vida u originen enfermedad fatal a humanos o animales.
- **Categoría B:** cualquier sustancia infecciosa que no cumpla los criterios para ser incluida en la categoría A.

Empaquetado

- Las cajas para el transporte de muestras biológicas tienen que cumplir determinadas normas sobre resistencia, presión, temperatura, etc.
- Las cajas autorizadas tienen una marca UN impresa en ellas, y no es aceptable que esta marca vaya escrita en la caja.
- Las normas de empaquetado que describimos corresponden a las instrucciones de embalaje 602 y 650 de las Normas de Mercancías Peligrosas de la IATA.

Etiquetado

- **Muestras diagnósticas en hielo seco:**
 - El nombre completo y dirección del remitente y del destinatario.
 - El código UN3373, junto con el nombre "muestra para diagnóstico o muestra clínica".
 - Etiqueta de mercancías peligrosas diversas de clase 9.
 - El peso neto del hielo seco.
- **Muestras infecciosas en hielo seco:**
 - El nombre completo y dirección del remitente y del destinatario.
 - El código UN2814, junto con el nombre "sustancia infecciosa que afecta a humanos".
 - Etiqueta de sustancia infecciosa de clase 6.2.
 - Etiqueta de mercancías peligrosas diversas de clase 9.
 - El peso neto del hielo seco y de la sustancia infecciosa.

Documentación

- **Sustancia infecciosas:** "Declaración del Expedidor de Mercancías Peligrosas".
- **Documentos aduaneros.**
- **Factura proforma** (envíos internacionales).
- **Inventario del contenido.**

2. Regulación jurídica de la importación y la exportación

- La entrada y la salida de España de muestras biológicas para el diagnóstico o la investigación en humanos está regulada mediante el Real Decreto 65/2006 del Ministerio de Sanidad y Consumo, por el que se establecen los requisitos para la importación y la exportación de muestras biológicas y necesita una autorización previa de la Dirección General de Salud Pública.

Entrada

- La **solicitud** de importación se deberá presentar en la Dirección General de Salud Pública, indicando el tipo de muestra que se desee importar siempre que cumpla los requisitos exigidos.
- La **documentación** que se debe presentar es:
 - Certificación sanitaria de origen.
 - Documento de responsabilidad.
 - Acreditación de la actividad del importador.
 - Modelo de despacho.
 - Cumplimiento de normas de transporte, embalaje, etc.

Salida

- Presentar la declaración a la Dirección General de Salud Pública, incluyendo la información necesaria para la identificación de la muestra y del destino.
- Cumplir la normativa internacional de transporte aplicable al tipo de muestra.
- Cuando en el destino se exija un certificado sanitario, éste será emitido por la Dirección General de Salud Pública.

3. Cautelas sobre el tratamiento de datos de carácter personal

Transferencia internacional de datos

- Por transferencia internacional de datos se entiende la **transmisión de los mismos fuera de los Estados miembros de la Unión Europea y de los países que hayan suscrito el Convenio del Espacio Económico Europeo**, ya que en este espacio se considera garantizado un nivel de protección adecuado o equiparable.

Establecimiento de procedimientos que garanticen la seguridad

- El responsable de los datos en origen cumple las exigencias de la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal.
- El importador debe disponer de mecanismos que garanticen el nivel de protección adecuado o equivalente.
- La transferencia debe ser autorizada por la Agencia Española de Protección de Datos, excepto si el sujeto consiente expresamente.

Desarrollo de procedimientos estandarizados

- Permiten:
 - Prestar las garantías necesarias.
 - Facilitar los flujos internacionales de datos.

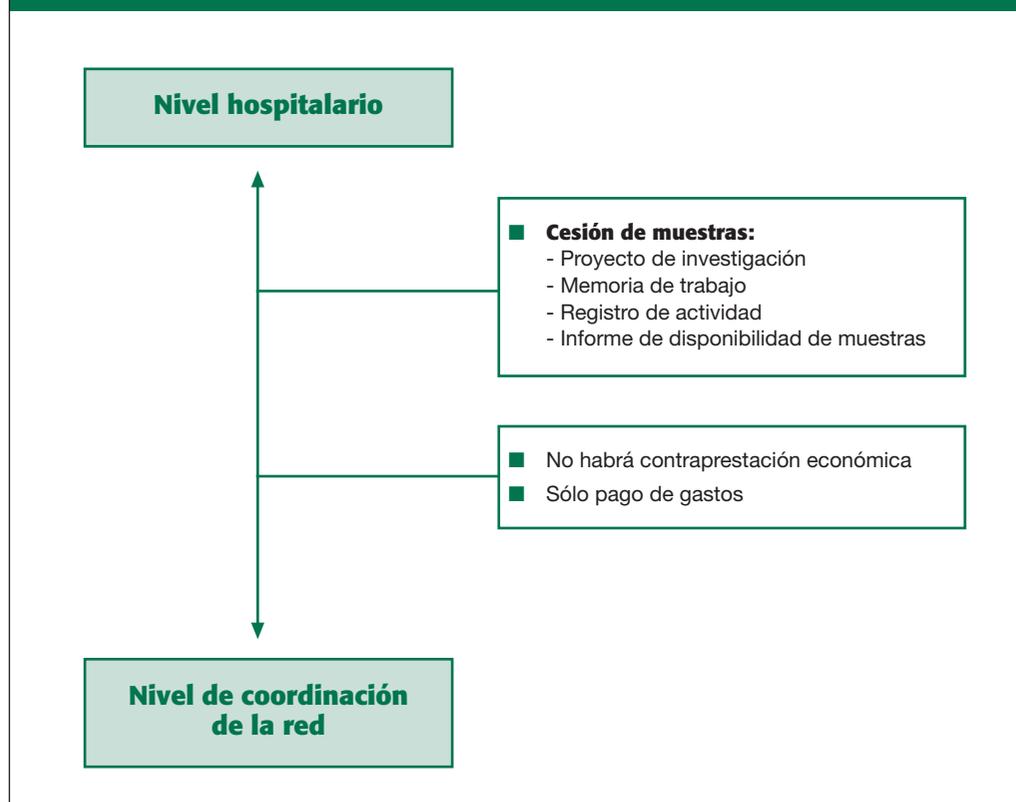
- Procedimientos desarrollados:
 - Estados en los que la Comisión Europea ha adoptado una decisión de existencia de nivel adecuado de protección.
 - Destinatario ubicado en los EE.UU.
 - Suscripción por el importador y el exportador de cláusulas contractuales que garanticen el nivel de protección adecuado.

5. Cesión

1. Uso de las muestras para investigación. Organización de un banco de muestras biológicas



2. Uso de las muestras para investigación. Gestión de las peticiones de material



3. Uso de las muestras para investigación. Principio de protección de datos

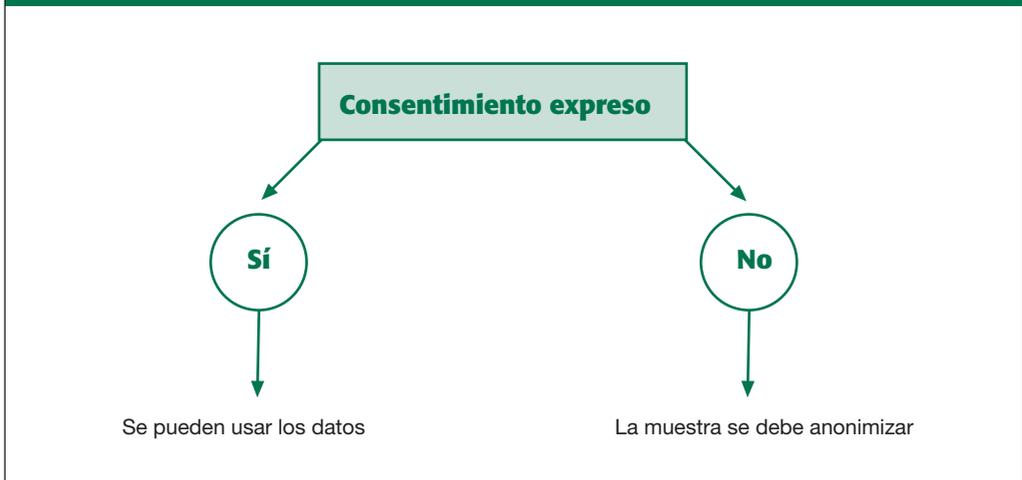
Cesión de muestras

- **Respeto de los derechos del sujeto:**
 - Secreto
 - Acceso a la información
 - Posibilidad de revocación
- El sujeto debe conocer la finalidad
- Informar si se ceden datos

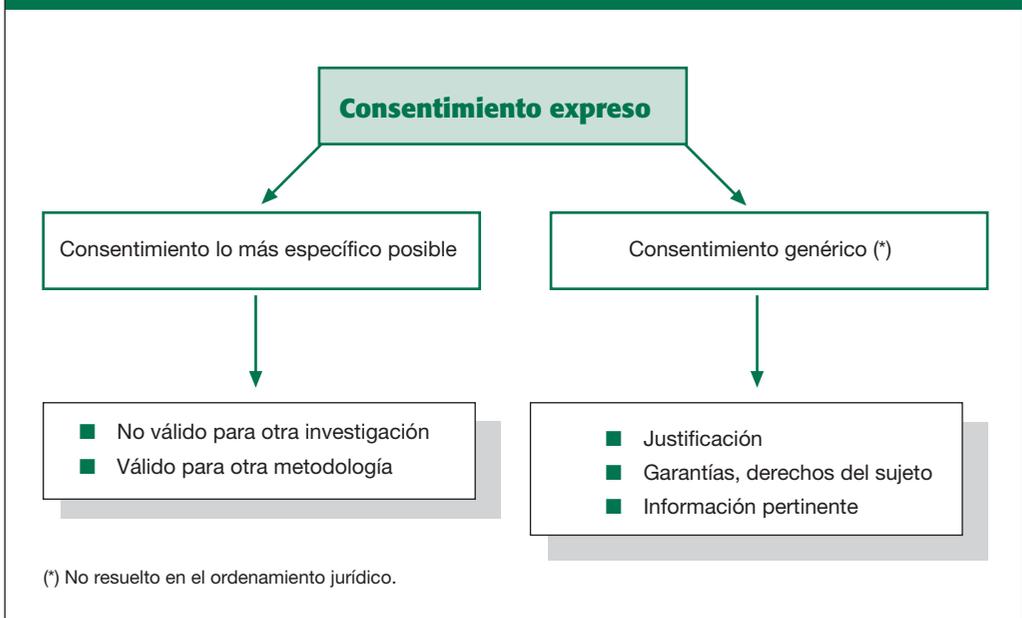
Consentimiento expreso

6. Procesamiento/flujo y circuito de uso de la muestra

1. Implicaciones jurídicas



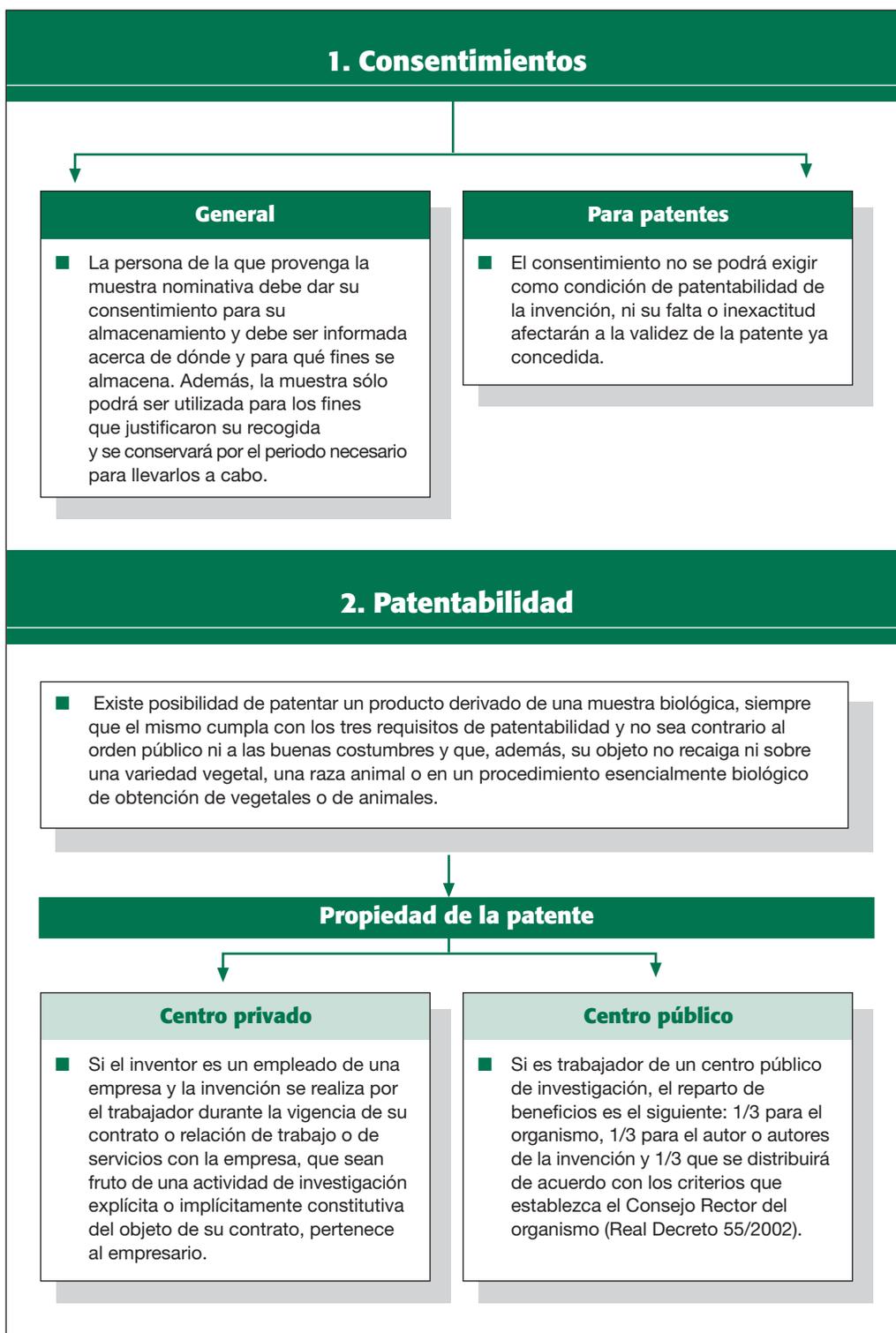
2. Tipos de consentimiento



7. Prácticas de seguridad



8. Explotación



3. Comercialización

- Existe la posibilidad de patentar un producto derivado de una muestra biológica, siempre que el mismo cumpla con los tres requisitos de patentabilidad y no sea contrario al orden público ni a las buenas costumbres y que, además, su objeto no recaiga ni sobre una variedad vegetal, una raza animal o un procedimiento esencialmente biológico de obtención de vegetales o de animales.

9. Gestión de calidad

1. Sistemas de gestión de calidad (SGC)

Motivación

- Hay que establecer un sistema de gestión de la calidad (SGC), especialmente, en el seno de una red cooperativa:
 - Para garantizar la calidad de las muestras servidas al investigador.
 - Para mejorar la organización del propio biobanco.
- Ésta debe ser la motivación principal. Cualquier otra (incluido el hecho de tener una acreditación/certificación) es secundaria.

Normas

- Existen diversos modelos de gestión llamados normas. La más conocida es la **UNE-EN-ISO 9001:2000**. Es un modelo general, flexible y fácilmente escalable. Es, por tanto, aplicable a un biobanco.

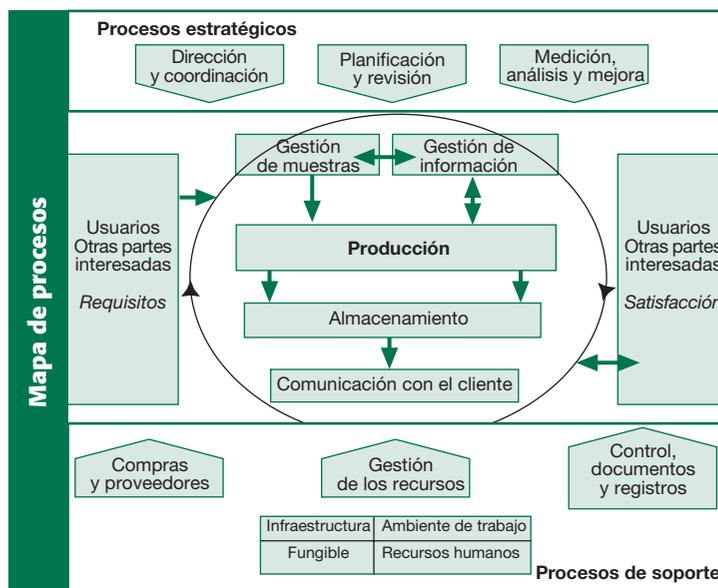
2. Implantación del SGC

■ Para una buena implantación del SGC, es clave implicar a todo el personal del biobanco.

Planificación

- Ésta debe:
 - Definir al responsable de calidad.
 - Establecer los objetivos de calidad, el alcance del SGC y las exclusiones a la norma.
 - Identificar los procesos necesarios.
 - Determinar la estructura de la documentación que forma parte del SGC.

■ **De los procesos:** establecimiento de los requisitos



Diseño

■ **De su documentación:** definición del modo en que se llevan a cabo las actividades.

■ **De las actividades comprendidas:** asignación de las responsabilidades a cada uno de los procesos.

3. Certificación

Motivación

- Un biobanco puede tener implantado un SGC y no estar certificado. La certificación, sin embargo, distingue a un biobanco y potencia la imagen que el usuario del banco tiene del mismo.

Proceso de certificación

- Implantación previa a la solicitud para valorar su funcionamiento.
- La empresa certificadora, acreditada en España por ENAC, analiza la documentación, visita el biobanco y emite un informe de la auditoría.
- El biobanco tiene un plazo para cumplir con las recomendaciones realizadas por la auditoría, y cuando se revisen las acciones de mejora emitirá el certificado.

Mantenimiento

- Una vez obtenida la certificación, el biobanco deberá elaborar un calendario anual de mantenimiento y mejora del SGC.

10. Gestión de bases de datos

1. Creación, modificación o supresión

Titularidad pública

- La creación, modificación o supresión exigen la aprobación de una disposición general publicada en el diario oficial correspondiente.
- Además, se debe notificar al Registro General de Protección de Datos conforme al modelo oficial disponible en la Agencia Española de Protección de Datos, o en la Agencia de Protección de Datos de la Comunidad de Madrid, la Agencia Catalana de Protección de Datos y la Agencia Vasca de Protección de Datos.

Titularidad privada

- La creación, modificación o supresión de ficheros se deben notificar al Registro General de Protección de Datos conforme al modelo oficial disponible en la Agencia Española de Protección de Datos.

La contratación de servicios

- El responsable del tratamiento es aquel que decide la finalidad, el contenido y el uso de los datos personales, incluso aunque no los trate materialmente.
- El encargado del tratamiento es el que presta un servicio al responsable, que implica el acceso a los datos personales.
- La prestación de servicios debe estar formalizada en un contrato por escrito.
- En el contrato se debe señalar que sólo se tratarán los datos siguiendo las instrucciones del responsable; que no se utilizarán para un fin distinto del establecido; tampoco se comunicarán a terceros, debiendo devolver o destruir la información al finalizar aquél.
- La subcontratación de servicios es posible con garantías equivalentes a las señaladas, siempre con conocimiento e intervención del responsable que encargó la prestación de servicios.

2. Cuadro resumen de las medidas de seguridad

REGLAMENTO DE MEDIDAS DE SEGURIDAD DE LOS FICHEROS QUE CONTENGAN DATOS DE CARÁCTER PERSONAL (RD 994/1999)

- **Nivel básico:** ficheros que contengan datos de carácter personal.
- **Nivel medio:** ficheros que contengan datos relativos a la comisión de infracciones administrativas o penales, Hacienda Pública, servicios financieros y los que se rijan por el artículo 29 de la LOPD (prestación de servicios de solvencia y crédito).
- **Nivel alto:** ficheros que contengan datos de ideología, creencias, origen racial, salud o vida sexual, así como los recabados para fines policiales sin consentimiento de las personas afectadas.

	Nivel básico	Nivel medio	Nivel alto
Documento de seguridad	<ul style="list-style-type: none"> ■ Ámbito de aplicación. ■ Medidas, normas, procedimientos, reglas y estándares de seguridad. ■ Funciones y obligaciones del personal. ■ Estructura y descripción de ficheros y sistemas de información. ■ Procedimiento de notificación, gestión y respuesta ante incidencias. ■ Procedimiento de realización de copias de respaldo y recuperación de datos. 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Identificación del responsable de seguridad. ■ Control periódico del cumplimiento del documento. ■ Medidas que se deben adoptar en caso de reutilización o desecho de soportes. 	
Personal	<ul style="list-style-type: none"> ■ Funciones y obligaciones claramente definidas y documentadas. ■ Difusión entre el personal de las normas que les afecten y de las consecuencias por incumplimiento. 		

	Nivel básico	Nivel medio	Nivel alto
Incidencias	<ul style="list-style-type: none"> ■ Registrar el tipo de incidencia, momento en el que se ha producido, persona que la notifica, persona a la que se le comunica y efectos derivados. 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Registrar la realización de procedimientos de recuperación de los datos, persona que lo ejecuta, datos restaurados y grabados manualmente. ■ Autorización por escrito del responsable del fichero para su recuperación. 	
Identificación y autenticación	<ul style="list-style-type: none"> ■ Relación actualizada de usuarios y accesos autorizados. ■ Procedimientos de identificación y autenticación. ■ Criterios de accesos. ■ Procedimientos de asignación y gestión de contraseñas y periodicidad con los que se cambian. ■ Almacenamiento ininteligible de contraseñas activas. 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Se establecerá el mecanismo que permita la identificación de forma inequívoca y personalizada de todo usuario y la verificación de que está autorizado. ■ Límite de intentos reiterados de acceso no autorizado. 	
Control de acceso	<ul style="list-style-type: none"> ■ Cada usuario accederá únicamente a los datos y recursos necesarios para el desarrollo de sus funciones. ■ Mecanismo que evite el acceso a datos o recursos con derechos distintos de los autorizados. ■ Concesión de permisos de acceso sólo por personal autorizado. 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Control de acceso físico a los locales donde se encuentren ubicados los sistemas de información. 	
Gestión de soportes	<ul style="list-style-type: none"> ■ Identificar el tipo de información que contienen. ■ Inventario. ■ Almacenamiento con acceso restringido. ■ Salida de soportes autorizada por el responsable del fichero. 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Registro de entrada y salida de soporte. ■ Medidas para impedir la recuperación posterior de información de un soporte que vaya a ser desechado o reutilizado. ■ Medidas que impidan la recuperación indebida de la información almacenada en un soporte que vaya a salir como consecuencia de operaciones de mantenimiento. 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Cifrado de datos en la distribución de soportes.

	Nivel básico	Nivel medio	Nivel alto
Copias de respaldo	<ul style="list-style-type: none"> ■ Verificar la identificación y aplicación de los procedimientos de copias y recuperación. ■ Garantizar la reconstrucción de los datos en el estado en que se encontraban en el momento de producirse la pérdida o destrucción. ■ Copia de respaldo, al menos semanal. 		<ul style="list-style-type: none"> ■ Copia de respaldo y procedimientos de recuperación en un lugar diferente del que los equipos se encuentren.
Responsable		<ul style="list-style-type: none"> ■ Uno o varios nombramientos por el responsable del fichero. ■ Encargado de coordinar y controlar las medidas del documento. ■ No supone delegación de responsabilidad del responsable del fichero. 	
Pruebas		<ul style="list-style-type: none"> ■ Sólo se realizarán si se asegura el nivel de seguridad correspondiente al tipo de fichero tratado. 	
Auditoría		<ul style="list-style-type: none"> ■ Al menos cada dos años, interna o externa. ■ Adecuación de las medidas y controles. ■ Deficiencias y propuestas correctoras. ■ Análisis del responsable de seguridad y conclusiones al responsable del fichero. ■ Adopción de las medidas correctoras adecuadas. 	
Registro de accesos			<ul style="list-style-type: none"> ■ Registrar usuario, hora, fichero, tipo de acceso y registro accedido. ■ Control del responsable de seguridad. Informe mensual. ■ Conservación: dos años.

	Nivel básico		
		Nivel medio	
Telecomunicaciones			Nivel alto ■ Transmisión de datos cifrada.

- Los niveles son acumulativos y tienen la condición de mínimos exigibles.
- Los accesos a través de redes de telecomunicaciones deben garantizar un nivel de seguridad equivalente al de los accesos en modo local.
- La ejecución de trabajos fuera de los locales de la ubicación del fichero debe ser expresamente autorizada por el responsable del fichero y garantizar el nivel de seguridad.
- Los ficheros temporales deberán cumplir el nivel de seguridad correspondiente y serán borrados una vez que hayan dejado de ser necesarios.
- Los ficheros de nivel básico que contengan datos que permitan obtener una evaluación de la personalidad del individuo deberán garantizar, además de las medidas de nivel básico, las de nivel medio relativas a auditoría, identificación, control de acceso físico y gestión de soportes.

Extraído de www.agdp.es.

11. Intervención de los Comités Éticos de Investigación Clínica

1. ¿Cuándo se debe recabar la opinión previa del CEIC?

- Se debe recabar el dictamen de un CEIC **antes de realizar cualquier proyecto de investigación con muestras biológicas humanas**. Un proyecto de investigación pretende obtener un conocimiento generalizable (sobre una enfermedad o sobre una población).
- **En caso de duda, se debe consultar al CEIC.**

2. Evaluación de proyectos de investigación con muestras biológicas identificadas o identificables

Retrospectivos

El proyecto de investigación se plantea sobre muestras ya recogidas y archivadas.

1. El **CEIC debe valorar si los objetivos y procedimientos del estudio actual se pueden considerar incluidos dentro del ámbito de aplicación del consentimiento previo**. Si no existiera consentimiento previo, se deberá valorar la factibilidad, ventajas e inconvenientes de obtener el consentimiento informado *a posteriori*.
2. En caso de no ser posible o conveniente plantear su obtención, aunque no existe legislación nacional al respecto, teniendo en cuenta la Recomendación (2006) 4 del Comité de Ministros del Consejo de Europa sobre la investigación con muestras biológicas de origen humano, el **proyecto se podría realizar si el CEIC considerase que la investigación aborda una cuestión de interés científico notable**. Los objetivos no se podrían conseguir utilizando muestras biológicas para las que se disponga del consentimiento informado, y de la realización del proyecto no cabe esperar consecuencias negativas para los sujetos o sus familiares. Sólo se podrían incluir muestras para las que no conste oposición expresa de los sujetos.

Prospectivos

- Las muestras se pueden haber obtenido únicamente para la investigación, o para un procedimiento asistencial y, además, se puede plantear al sujeto su utilización adicional con fines de investigación:

Siempre es necesario el consentimiento informado por escrito del sujeto. En el primer caso, para la obtención y utilización de la muestra, y en el segundo sólo para la utilización.

3. Información por escrito al donante

Objetivo de la recolección de muestras

- Puede: 1) estar vinculado a un proyecto de investigación con un objetivo concreto; o 2) formar parte de un banco de muestras. Deberá ser tan específico como sea posible. El grado de concreción podrá ser menor si la recolección es para un banco de muestras. Para evaluar cuál es la amplitud del objetivo que sería aceptable, el CEIC debe valorar si son muestras identificables o anónimas, el tiempo y las condiciones de conservación y los datos que se pretende obtener.
- Cuando el sujeto pueda contemplar su participación en la investigación como beneficiosa para su enfermedad (por ej.: ensayo clínico terapéutico), el CEIC debe vigilar que el consentimiento para la donación a un banco de muestras se plantee de forma independiente para preservar su carácter voluntario, que podría verse en peligro por el deseo o necesidad del paciente de participar en el ensayo terapéutico.

Método de obtención de las muestras

- Se deben explicar los riesgos y molestias derivados del procedimiento de obtención de la muestra.

Método de identificación de las muestras

- Se debería utilizar un código que no permita extraer información sobre la identidad o patología del sujeto (muestras identificadas o identificables vs. anónimas).

Conservación

- Dónde, cómo y cuánto tiempo (periodo de tiempo limitado y proporcional al tiempo necesario para llevar a cabo los objetivos establecidos). La muestra se debe conservar en un lugar seguro y de acceso restringido. Se informará sobre el **destino de la muestra cuando finalice la investigación** para la cual se obtuvo: se mantendrá almacenada, se destruirá o se anonimizará (destruyendo el código que la mantiene identificable).

Confidencialidad

- Se informará de que todos los datos son **confidenciales**. El acceso a la información personal quedará restringido a personal autorizado. Se informará de que **los datos** que se obtengan del análisis de la muestra **se van a archivar de manera segura** y de que el tratamiento de los datos de carácter personal se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.

Gratuidad

- El sujeto debe ser informado de la gratuidad de la donación. Se puede compensar al sujeto por las molestias derivadas de la obtención de la muestra (por ej.: gastos de desplazamiento).

Cesión a terceros

- Debe ser consentida por el sujeto y nunca se podrá comerciar con ella.

Explotación de resultados

- El CEIC debe valorar la existencia de un posible beneficio particular para el sujeto a partir de los resultados del análisis. Si existe un posible beneficio, se debe preguntar sobre el deseo de ser o no informado de los hallazgos de la investigación. Esto no es aplicable a investigaciones sobre datos completamente anónimos ni a datos que no permitan sacar conclusiones particulares sobre las personas que hayan participado en tales investigaciones. Cuando no se prevea un beneficio directo para el sujeto, se le deberá informar adecuadamente.

Derecho de revocación

- Este derecho sólo es ejercitable en caso de muestras asociadas o asociables a un sujeto identificado. Se debe informar de las consecuencias de la revocación: destrucción o anonimización de la muestra, la no obtención de nueva información biomédica de esa muestra, y la conservación de la información biomédica obtenida hasta ese momento.

Voluntariedad

- El consentimiento para participar debe ser otorgado de forma libre y convenientemente informada. El sujeto debe ser informado de que su participación es voluntaria, así como de que tiene derecho a negarse a participar en cualquier momento sin que por ello se vea afectada su atención médica.

Ausencia de beneficio económico

- Puede ser aceptable aclarar que el sujeto no tiene derechos sobre patentes y explotaciones comerciales de los descubrimientos que se realicen.



GUÍA PRÁCTICA

**para la
utilización
de muestras
biológicas en
Investigación
Biomédica**



GLOSARIOS

- 1. Definiciones**
- 2. Siglas**

Glosarios

1. DEFINICIONES

- **Acreditación:** procedimiento mediante el cual un organismo autorizado reconoce, formalmente, que una organización es competente para la realización de una determinada actividad de evaluación de la conformidad.
- **ADN polimerasa:** enzima que cataliza la síntesis de ADN de doble hebra a partir de una sola.
- **Amniocentesis:** punción transabdominal para extraer líquido amniótico.
- **Amplificación:** producción de copias adicionales de una secuencia de ADN.
- **Anticuerpo:** molécula de la superfamilia de las inmunoglobulinas producida por los linfocitos B en respuesta a un determinante antigénico con el cual puede interactuar gracias a su estructura tridimensional.
- **Apoptosis:** forma más común de muerte celular fisiológica (como opuesta a la patológica). Es un proceso activo que requiere la actividad metabólica de la célula que muere y se caracteriza por fragmentación del ADN, condensación y marginación de la cromatina. A menudo, se denomina muerte celular programada. Las células que mueren por apoptosis por razones sin aclarar no suelen provocar las respuestas inflamatorias asociadas con la necrosis.
- **Biopsia:** muestra de tejido tomada de un paciente o donante vivo, con fines diagnósticos o de investigación.
- **Biopsia *tru-cut*:** biopsia realizada mediante una aguja tipo *tru-cut*. La aguja está constituida por dos partes: un obturador interno que tiene una ranura para tejido en la parte distal y una cánula externa. La punta distal de la cánula externa presenta un borde cortante. La aguja *tru-cut*, además de obtener una biopsia, permite conseguir una citología por aspiración.
- **Cariotipo:** composición gráfica de los cromosomas de una célula ordenados según un patrón estándar, con fines diagnósticos o de investigación.

- **Célula troncal:** célula con capacidad para autorrenovarse en mayor o menor medida y, al mismo tiempo, dar lugar a las diferentes células de uno o varios linajes celulares.
- **Centrifugación:** proceso por el que se separan fracciones celulares o moleculares de un sistema en una centrífuga. La forma más básica consiste en la sedimentación a una determinada fuerza centrífuga de las partículas en el fondo de un tubo, que deja un sobrenadante. La sedimentación viene determinada, entre otros factores, por el tamaño y la densidad de las partículas, así como por la densidad del medio.
- **Certificación:** acto por el que una tercera parte testifica la conformidad de un determinado producto, proceso o servicio con una norma u otro documento normativo determinado.
- **Cesión o comunicación de datos:** toda revelación de datos realizada a una persona distinta del interesado.
- **Citometría de flujo:** término común utilizado para “separador celular activado por fluorescencia” –*Fluorescence Activated Cell Sorter (FACS)*–. En un citómetro separador, las células son marcadas con fluorocromos y pasadas en un medio en suspensión por un vibrador que provoca la fragmentación de un delgado chorro en gotas, de forma que las células se individualizan en las distintas gotas. Un sistema de excitación por láser y de detección de fluorescencia permite la identificación de las células marcadas. A aquellas gotas que contengan la célula que, en función de su fluorescencia, nos interese, se les aplica una carga eléctrica. Las gotas cargadas y no cargadas son posteriormente separadas por la carga. El sistema se puede utilizar como herramienta analítica (citómetro analizador). El gran poder de esta técnica es que permite analizar múltiples fluorescencias y parámetros físicos, así como un gran número de células, cada una de ellas de forma individual.
- **Citotóxico (sustancia):** sustancia química que es tóxica para la célula; impide su proliferación o crecimiento, o bien induce directamente su muerte.
- **Clase de mercancía peligrosa:** todas las mercancías peligrosas se asignan a una clase (hasta nueve) que depende del tipo de peligro que presenta el producto.
- **Cliente (o usuario):** organización o persona que recibe un producto.
- **Consentimiento:** manifestación de voluntad libre, válidamente emitida por una persona capaz, precedida de información adecuada.
- **Cultivo celular:** término general referido al mantenimiento de cepas o líneas celulares vivas en condiciones *in vitro*.
- **Cultivo primario:** células extraídas del tejido original y puestas en cultivo, así como su progenie, antes de que el cultivo se subdivide y se transfiera a un subcultivo.

- **Dato anonimizado o irreversiblemente disociado:** dato que no puede asociarse con una persona identificable por haberse destruido el nexo con toda la información que la pudiera identificar.
- **Dato anónimo:** dato recogido sin un nexo que pueda servir para identificar al sujeto titular.
- **Dato codificado o reversiblemente disociado:** dato no asociado con una persona identificable por haberse sustituido o desligado toda la información que identifica a esa persona, y que utiliza un código.
- **Dato de carácter personal:** cualquier información referida a un sujeto identificado o identificable.
- **Declaración del Expedidor:** documento requerido cuando se envían muestras biológicas clasificadas como infecciosas.
- **Destinatario:** receptor de la muestra biológica.
- **Dióxido de carbono, sólido:** hielo seco utilizado como refrigerante de muestras biológicas (UN1845).
- **Documento:** información y su medio de soporte.
- **Endonucleasas:** enzimas que hidrolizan moléculas de ADN de doble hebra en lugares interiores de la molécula.
- **Espécimen:** cualquier material que se envía al laboratorio sin ninguna manipulación previa. Su concepto es asimilable muchas veces al de “muestra”. En la actualidad, esta terminología está en desuso.
- **Estabilidad de una magnitud biológica:** capacidad de una propiedad biológica para mantener su valor dentro de unos límites preestablecidos y en unas condiciones específicas.
- **Estabilidad de una muestra:** capacidad de una muestra, cuando se mantiene en unas condiciones específicas, para mantener los valores de sus propiedades biológicas dentro de unos límites preestablecidos.
- **Etiqueta de biopeligro:** etiqueta que aparece en muchos paquetes interiores de muestras biológicas.
- **Exones:** regiones de un gen dispersas en el mismo, que se transcriben a ARNm y codifican la mayoría de las veces, pero no siempre parten de una proteína.
- **Expedidor:** remitente de la muestra biológica.
- **Explante:** tejido vivo transferido de un organismo a un medio artificial para cultivo.



- **Factor de crecimiento:** moléculas implicadas en la supervivencia y proliferación celular, por ejemplo, el factor de crecimiento epidérmico (EGF) o el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF). La insulina o la somatomedina constituyen también factores de crecimiento.
- **Fenotipo:** conjunto de características de un organismo (en el texto aplicado a células) que resulta de la expresión de sus genes (genotipo) en un determinado ambiente. Es el resultado de la interacción del genotipo y el ambiente.
- **Gen:** secuencia de nucleótidos del ADN que contiene la información de la producción regulada de ARNm y de proteína. Incluye secuencias interpuestas (intrones) entre segmentos codificantes (exones).
- **Genoma:** conjunto completo de genes y factores hereditarios contenido en las células de un organismo.
- **Genotipado:** desciframiento del genoma de un individuo.
- **Grupo de riesgo:** criterios desarrollados por la Organización Mundial de la Salud para la clasificación de muestras biológicas (el grupo de riesgo 1 es el menos peligroso y el grupo de riesgo 4 el más peligroso).
- **HAZMAT:** término utilizado en los EE.UU. para designar las mercancías peligrosas.
- **Inmunohistoquímica:** estudio de la expresión proteica de una muestra tisular o citológica. Se basa en la reacción antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) y consiste en incubar el Ag que queremos detectar frente a un Ac, mediante un sistema de amplificación, junto con el empleo de un sistema revelador para que esta unión pueda ser visualizada al microscopio óptico.
- **Inmunomarcaje:** localización de sustancias inmunorreactivas que emplean, como reactivos, anticuerpos conjugados a marcadores detectables.
- **Interleucina:** una variedad de sustancias producidas por leucocitos y otros tipos celulares con amplísimas funciones en supervivencia, proliferación y diferenciación celular.
- **Intrón:** región no codificante de un gen, que no se encuentra en el ARNm maduro y no se traduce a proteína.
- **Laboratorio procesador:** aquel que analiza las muestras de diagnóstico procedentes de fuera del laboratorio.
- **Línea celular:** una población de células propagadas en cultivo y que derivan de él siendo, por lo tanto, genéticamente idénticas a la célula precursora de la que se originó.
- **Líquido ascítico:** fluido biológico presente en la cavidad peritoneal, particularmente evidente en algunas condiciones patológicas. Su obtención se alcanza mediante la

punción de la pared abdominal, procedimiento conocido como paracentesis. Dependiendo de la concentración proteica, de glucosa, de LDH y la presencia celular, el líquido pleural, pericárdico y ascítico se diferencia en exudado y trasudado.

- **Líquido cefalorraquídeo (LCR):** fluido biológico presente tanto en el espacio subaracnoideo como en el sistema ventricular. Habitualmente, el LCR se obtiene accediendo al espacio subaracnoideo mediante punción lumbar.
- **Líquido pericárdico:** fluido biológico presente en la cavidad pericárdica, particularmente evidente en algunas condiciones patológicas. Se obtiene por punción de la cavidad pericárdica, procedimiento que es conocido como pericardiocentesis.
- **Líquido pleural:** fluido biológico presente en la cavidad pleural, particularmente evidente en algunas condiciones patológicas. Su obtención se realiza con el procedimiento de toracocentesis.
- **Líquido sinovial:** fluido biológico presente en la cavidad articular. Su obtención por punción de la articulación afectada aporta información acerca de la causa de la inflamación articular.
- **“Los paquetes interiores satisfacen las especificaciones prescritas”:** frase que debe aparecer en los paquetes adicionales de muestras biológicas.
- **Marca de elegibilidad para transporte aéreo:** marca de un avión que tiene que figurar en todos los paquetes de mercancías peligrosas enviados por vía aérea a partir del 1 de enero de 2004.
- **Material absorbente:** material utilizado en los paquetes interiores para absorber el líquido que pudiera fugarse.
- **Matriz extracelular:** cualquier material producido por las células y secretado al medio circundante, normalmente aplicado a la fracción no celular de los tejidos animales. La matriz extracelular del tejido conectivo es particularmente importante y sus propiedades determinan las propiedades del tejido. En términos amplios, se distinguen tres componentes principales: elementos fibrosos (principalmente colágeno, elastina o reticulina), proteínas de anclaje (por ejemplo, fibronectina, laminina) y moléculas “de relleno” (normalmente glucosaminoglucanos). La matriz puede estar mineralizada para resistir la compresión (como en el hueso) u organizada con predominio de fibras resistentes (como en los tendones). La lámina basal de las células epiteliales es una forma especializada de matriz extracelular. La matriz extracelular condiciona el comportamiento de las células de forma muy acusada y, por consiguiente, es un importante factor a considerar cuando crecen las células *in vitro*.
- **Mercancías peligrosas diversas:** se refiere a las mercancías peligrosas clasificadas bajo la clase 9, entre las que se incluyen el hielo seco/dióxido de carbono, sólido.

- **Microsatélites:** regiones del genoma caracterizadas por la repetición de sólo dos o tres nucleótidos. El número de repeticiones varía de un individuo a otro, originando polimorfismos de valor informativo en el diagnóstico.
- **Módulo de obtención de muestras:** cualquier espacio físico donde los profesionales sanitarios realizan las funciones de obtención, recepción e identificación de las muestras para trasladarlas al laboratorio clínico procesador.
- **Molécula de adhesión:** aunque este término podría incluir cualquier molécula implicada en fenómenos de adhesión celular, se usa de forma más restrictiva para denominar moléculas de la superficie de células animales que permiten las interacciones de unas células con otras o con los elementos de la matriz extracelular. Pertenecen a cuatro grandes familias: cadherinas, moléculas de adhesión de la superfamilia de las inmunoglobulinas, interginas y selectinas.
- **Muestra citológica:** parte de las células de un tejido extraída por procedimientos invasivos (por ejemplo, una punción) o no invasivos (por ejemplo, el roce de la mucosa bucal con un cepillo o un portaobjetos).
- **Muestra de diagnóstico:** cualquier material humano que es remitido al laboratorio para su análisis.
- **Muestra tisular:** parte de un tejido extraída por procedimientos quirúrgicos o no invasivos, considerada representativa del mismo.
- **Mutación:** cualquier cambio que aparece en la secuencia del ADN genómico. Pueden existir mutaciones somáticas en las que uno solo o varios tejidos están alterados, y mutaciones germinales, que afectan a todas las células del organismo y se heredan.
- **Neuroblastoma:** ejemplo típico de tumor sólido infantil maligno. Crece a partir de las células de la médula suprarrenal. Tiene capacidad de maduración espontánea y origina el ganglioneuroblastoma o el ganglioneuroma.
- **Nitrógeno en fase líquida/gaseosa:** el nitrógeno, a bajas temperaturas, puede estar en estado líquido o en estado gaseoso. Los contenedores que emplean nitrógeno pueden hacerlo en fase gaseosa o líquida (o ambas).
- **Núcleo:** orgánulo intracelular que contiene la inmensa mayoría del material genético de la célula eucarionte.
- **Nucleótido:** los ácidos nucleicos se componen de muchos nucleótidos, cada uno de los cuales contiene una base nitrogenada, un azúcar pentosa y un grupo fosfato.
- **Paquete adicional:** es el utilizado para empaquetar muestras biológicas y hielo seco en un mismo paquete exterior.

- **Patente de invención:** es la institución del ordenamiento jurídico destinada a fomentar el progreso tecnológico a través de la concesión de una tutela jurídica especial sobre las invenciones. Le otorga al inventor o a sus legítimos causahabientes un derecho de exclusiva, de monopolio, durante un tiempo limitado –en concreto, durante 20 años–. Como contrapartida a la concesión de este monopolio, al inventor o a sus causahabientes, el contenido de las invenciones ha de hacerse público y su explotación pasa a ser libre cuando finaliza el plazo por el que se concede el derecho de exclusiva.
- **Plasma:** fracción líquida de la sangre que contiene todos sus componentes proteicos. La sangre se debe obtener y almacenar en material de plástico en presencia del anticoagulante citrato trisódico a una concentración final de 0,105 mol/L. La sangre debe ser centrifugada en las condiciones requeridas para el estudio determinado (temperatura ambiente, 4 °C, etc.). El sobrenadante de aspecto amarillento corresponde al plasma.
- **Polimorfismo:** existencia simultánea de genomas diferentes en la misma población en una proporción superior al 1%.
- **Procedimiento:** forma especificada para llevar a cabo una actividad o proceso.
- **Procedimiento de disociación:** todo tratamiento de datos personales, de modo que la información que se obtenga no pueda asociarse a una persona identificada o identificable.
- **Proceso:** conjunto de actividades relacionadas que transforman elementos de entrada en resultados.
- **Producto:** resultado de un proceso que puede ser tangible (contables, incontables, etc., por ejemplo, los materiales) o intangible (servicios, información, etc.).
- **Propiedad o magnitud biológica:** atributo de un cuerpo o sustancia biológica que puede ser distinguida cualitativamente y determinada cuantitativamente.
- **Proteasa:** término normalmente utilizado para las endopeptidasas que tienen una amplia especificidad y que pueden digerir la mayoría de las proteínas en fragmentos pequeños. Son habitualmente enzimas digestivas (tripsina, pepsina, etc.), enzimas de origen vegetal (papaína, etc.) o bacteriano (pronasa, proteinasa k, etc.).
- **Punción citológica:** introducción de un instrumento agudo, como un trocar o una aguja, en un tejido, órgano o cavidad con el fin de extraer células para su estudio. En muchas ocasiones, tiene lugar mediante una aguja fina que se aplica en el tejido de origen de las células empleando presión negativa (punción-aspiración).
- **Red cooperativa:** conjunto de grupos o centros de investigación organizados de cara a un fin determinado (por ejemplo, el estudio del cáncer). Desde hace varios años, funcionan redes de investigación cooperativas financiadas por el Fondo de Investigaciones Sanitarias.

- **Refrigerante:** material utilizado para mantener a baja temperatura una muestra biológica. Los refrigerantes incluyen hielo seco (dióxido de carbono, sólido) y hielo húmedo.
- **Ribonucleasas o ARNasas:** enzimas muy estables y activas que digieren o cortan las moléculas de ARN.
- **Secuenciación:** técnica por la que se descifran, una detrás de otra, todas las bases de un fragmento de ADN.
- **Somáticas:** todas las células de un organismo que no pertenecen a la línea germinal.
- **Southern Blot:** técnica por la que se transfieren fragmentos de ADN de un gel de agarosa a un filtro de nailon.
- **Suero:** fracción líquida de la sangre resultante tras el proceso de coagulación. Se obtiene por centrifugación de la sangre completamente coagulada de la que se separan los elementos celulares y la malla de fibrina.
- **Sujeto fuente:** individuo del que proviene la muestra biológica.
- **Sustancia peligrosa:** cualquier sustancia que, si se derrama, puede afectar adversamente al medio ambiente –término utilizado principalmente en los EE.UU.–.
- **Tallado del tumor:** procedimiento por el que se secciona un espécimen tisular/tumoral para tomar las muestras necesarias para su estudio anatomopatológico.
- **Taq-polimerasa:** ADN polimerasa termoestable aislada de la bacteria *Thermus aquaticus* y que se utiliza en la PCR.
- **Tiempo de preanalítica:** aquel que transcurre desde la obtención de la muestra o espécimen hasta el momento de su análisis.
- **Trazabilidad:** capacidad para seguir la historia, la aplicación o la localización de todo aquello que está bajo consideración.
- **Tripsina:** enzima proteolítica.
- **Tumor:** conjunto de células transformadas, con capacidades de multiplicación y crecimiento anómalas; de él pueden originarse otros focos secundarios denominados metástasis.
- **Vellosidades coriales:** muestra esponjosa fetal tomada por biopsia del tejido que dará lugar al corion frondoso.

2. SIGLAS

- **ADN:** ácido desoxirribonucleico
- **ADNc:** ADN complementario
- **ADNs:** ADN
- **ADR:** *Accord Dangereux Routier* (transporte de mercancías peligrosas en Europa)
- **AEHH:** Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia
- **AENOR:** Asociación Española de Normalización y Certificación
- **ANEP:** Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva
- **ARN:** ácido ribonucleico
- **ARNasas:** ribonucleasas
- **ARNm:** ARN mensajero
- **ARNr:** ARN ribosómico
- **ARNt:** ARN de transferencia
- **ATCC:** *American Type Culture Collection*
- **BOE:** *Boletín Oficial del Estado*
- **BT:** banco de tumores
- **Ca²⁺:** ión calcio
- **CAA:** Autoridad de Aviación Civil (Reino Unido)
- **CDBI:** *Council of Europe, Steering Committee on Bioethics*
- **CE:** Consejo de Europa
- **CEIC:** Comités Éticos de Investigación Clínica
- **CFR:** Código de Normas Federales. Normas de mercancías peligrosas de los EE.UU. para el transporte por aire, mar y carretera (autopista)
- **CIC:** Centro de Investigación del Cáncer

- **CIM:** Contrato de transporte internacional por ferrocarril de las mercancías
- **CMV:** citomegalovirus
- **CNIO:** Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas
- **COTIF:** Contrato de transporte internacional por ferrocarril de las mercancías
- **CSIC:** Consejo Superior de Investigaciones Científicas
- **CSIC-UV:** Consejo Superior de Investigaciones Científicas de la Universidad de Valencia
- **DEPC:** dietil pirocarbonato
- **DGD:** Declaración de Mercancías Peligrosas
- **DGR:** Normas de Mercancías Peligrosas
- **DMSO:** dimetil sulfóxido (agente crioprotector)
- **DNA:** ácido desoxirribonucleico
- **DNAasas:** desoxirribonucleasas
- **ECACC:** *European Collection of Cell Cultures*
- **EDTA:** ácido etilendiaminetetracético (anticoagulante)
- **EE.UU.:** Estados Unidos de América
- **EFQM:** *European Foundation Quality Managment*
- **EGF:** factor de crecimiento epidérmico
- **EMA:** Asociación Europea de Medicamentos
- **ENAC:** Entidad Nacional de Acreditación y Certificación
- **FAA:** Administración de Aviación Federal (EE.UU.)
- **FACS:** *Fluorescence Activated Cell Sorter*
- **FCS:** Fundación de Ciencias para la Salud
- **FGF:** factor de crecimiento de fibroblastos

- **FISH:** *Fluorescent in situ Hybridization*
- **FO:** fibra óptica
- **GD2:** gangliósido 2
- **HBSS:** solución salina balanceada de Bank
- **HEPES:** tipo de solución tampón
- **HIV:** VIH (virus de la inmunodeficiencia humana)
- **I+D+I:** Investigación y Desarrollo
- **IATA:** Asociación de Transporte Aéreo Internacional
- **IATA-DGR:** Asociación de Transporte Internacional de Sustancias Peligrosas
- **ICAO:** Organización Internacional de Aviación Civil
- **ICE:** abreviatura de la IATA para el hielo seco/dióxido de carbono sólido
- **IMDG:** Código Internacional de Transporte Marítimo de Mercancías Peligrosas
- **IMO:** *International Maritime Organization*
- **INR:** razón normalizada internacional
- **INSALUD:** Instituto Nacional de la Salud
- **ISO:** *International Organization for Standardization* (Organización Internacional de Normalización)
- **ISO/IEC:** *International Organization for Standardization/International Electrotechnical*
- **ISTH:** Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia
- **LCAM:** molécula de adhesión de células de hígado
- **LCR:** líquido cefalorraquídeo
- **LDH:** lactato deshidrogenada
- **LOPD:** Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Oficial
- **MC:** manual de calidad

- **MO:** microscopio óptico
- **NCAM:** molécula de adhesión de células neurales
- **NCCLS:** *National Committee for Clinical Laboratory Standards*
- **NIH:** *National Institute of Health*
- **OMS:** Organización Mundial de la Salud
- **P/V:** % peso respecto del volumen de soluto
- **PAAF:** punción-aspiración con aguja fina
- **PBS:** solución amortiguadora fosfato-salina
- **PCR:** *Polimerase Chain Reaction* (reacción en cadena de la polimerasa)
- **PD:** Farmacodinamia
- **PDF:** productos de degradación de la fibrina
- **PE:** procedimientos específicos
- **PG:** procedimientos generales
- **PI:** instrucciones de empaquetado
- **PI602:** instrucciones de empaquetado de sustancias infecciosas
- **PI659:** instrucciones de empaquetado de muestras diagnósticas
- **PK:** Farmacocinética
- **PNTs:** protocolos normalizados de trabajo
- **PPP:** plasma pobre en plaquetas
- **PRP:** plasma rico en plaquetas
- **PSN:** nombre correcto de envío que debe ser utilizado en todos los documentos
- **RID:** Reglamento de Transporte Internacional por Ferrocarril de Mercancías Peligrosas
- **RIS:** abreviatura de la IATA para sustancias infecciosas

- **RNA:** ARN
- **RNAsas:** ARNasas
- **RNAse ZAP:** *RNAse Decontamination Solution*
- **RSR:** Proyecto de Investigación para el Banco de Muestras de Roche
- **RT-PCR:** retrotranscripción y amplificación en cadena de la polimerasa (técnica enzimática que transforma ARN en ADNc a partir del cual se realiza una PCR)
- **RTICCC:** Red Temática de Investigación de Centros de Cáncer
- **SA:** sin anticoagulante
- **SAI:** Servicios de Apoyo a la Investigación
- **SDS:** dodecil sulfato de sodio (detergente)
- **SEQC:** Sociedad Española de Quimiometría y Cualimetría
- **SETH:** Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia
- **SGC:** sistema de gestión de calidad
- **SIDA:** síndrome de inmunodeficiencia adquirida
- **SNAP:** *Whatman SNAP Extraction System*
- **SNOMED:** *Systematised Nomenclature of Medicine*
- **SNPs:** *Single Nucleotide Polimorfism*
- **TCG:** tiocianato de guanidina
- **TI:** instrucciones técnicas (ICAO)
- **TJCE:** Tribunal de Justicia de la Comunidad Europea
- **TTPA:** tiempo de tromboplastina parcial
- **UE:** Unión Europea
- **UN:** *United Nations*
- **UN1845:** número UN para hielo seco o dióxido de carbono sólido

- **UN2814:** número Un y PSN para muestras infecciosas
- **UN3373:** número UN para muestras de diagnósticos
- **UNCETG:** *United Nations Committee of Experts for the Transportation of Dangerous Goods*
- **UNE:** normas UNE; directrices para los planes de calidad
- **UNESCO:** Organización de las Naciones Unidas para la Educación
- **UPU:** *The Universal Postal Union*
- **USAL-CSIC:** Consejo Superior de Investigaciones Científicas de la Universidad de Salamanca
- **UV:** ultravioleta
- **VSG:** velocidad de sedimentación globular
- **WGA:** *Whole Genome Amplification*
- **WHO:** *World Health Organization*