

Prelucrarea și Depozitarea Sângelui pentru Biobancă

1.0 Scop

Crearea unor proceduri standardizate pentru biobănci în vederea prelucrării și depozitării probelor de sânge de la participanți care și-au dat în prealabil acordul pentru prelucrarea probelor.

2.0 Responsabilități

Probele de sânge sunt recoltate de către personalul calificat, în centre de recoltare, spitale sau cabinete medicale, iar prelucrarea ulterioară și depozitarea intră în responsabilitatea personalului biobăncii.

3.0 Metoda de prelucrare

3.1 Programul de recoltare

3.1.1 Personalul medical responsabil de recoltarea sângelui trebuie să contacteze personalul biobăncii în cel mai scurt timp, în așa fel încât probele să ajungă la biobancă pentru a fi prelucrate.

3.2 Verificare datelor de identificare

3.2.1 Personalul biobăncii trebuie să verifice dacă datele participantului la studiu, corespund cu datele de pe tuburile de recoltare. De asemenea se verifică integritatea și calitatea probelor.

3.3 Separarea Plasmei de Frațiunile Celulare

Sângele integral poate fi prelucrat imediat pentru obținerea ADN/ARN-ului sau procesat după descrierea de mai jos, pentru obținerea plasmei, stratului leucocitar și stratului eritocitar.

3.3.1. În spațiul destinat procesării sângelui (colectat în tuburi cu anticoagulant ex. EDTA- dop mov) se va fracționa sângele integral prin centrifugare la 1500-2000 g pentru 15 minute, la temperatura camerei. Acesta se va separa în trei straturi vizibile.

Stratul superior -Plasma- este în general un lichid clar, de culoare galben-pal.

Stratul mijlociu -Stratul leucocitar- este mult mai subțire, alb-gri.

Stratul al treilea -Stratul Eritrocitar- are o culoare roșu închis.

3.3.2. Cu ajutorul unei pipete de unică folosință (Pasteur) se aspiră plasma până la 1 mm de stratul leucocitar, în așa fel încât acesta să nu se tulbure.

3.3.3. Plasma aspirată se transferă într-un tub de colectare.

3.3.4. Din tubul de colectare, plasma se va alicota în criotuburi.

3.3.5. Până în momentul depozitării, probele alicotate se vor păstra pe gheață carbonică.

3.3.6. Criotuburile se vor stoca în cutii de depozitare numerotate corespunzător, la -80°C (congelator/azot lichid).

3.3.7. Se va face înregistrarea locației și poziției probelor din echipamentele de depozitare.

3.4 Separarea stratului leucocitar

3.4.1. După colectarea plasmei, cu o pipeta nouă Pasteur, se va face colectarea stratului leucocitar (aproximativ 0.5 mL strat leucocitar din 10 mL sânge integral).

3.4.2. Stratul leucocitar se va transfera într-un criotub.

3.4.3. Până în momentul stocării, criotubul se va ține pe gheață carbonică.

3.4.4. Imediat ce manipularea probelor s-a încheiat, acestea se vor stoca la -80°C (congelator/azot lichid).

3.4.5. Se va face înregistrarea locației și poziției probelor din echipamentele de depozitare.

3.5. Separarea Serului din probele de sânge

3.5.1. Sângele integral se va recolta în recipiente care conțin particule cu rol în activarea coagulării (dop roșu).

3.5.2. După recoltare, tubul se va răsuca de câteva ori în vederea unei coagulări corespunzătoare.

3.5.3. Tubul cu sângele integral se va incuba o ora la temperatura camerei, pentru a permite o coagulare completă.

3.5.4. După coagulare, proba se centrifughează la 1500 g pentru 15 minute, la temperatura camerei, pentru obținerea serului.

3.5.5. Se aspiră supernatantul -serul- și se va transfera în criotuburi.

3.5.6. Până în momentul stocării, criotubul se va ține pe gheață carbonică.

3.5.7. Imediat ce manipularea probelor s-a încheiat, acestea se vor stoca la -80°C (congelator/azot lichid).

3.5.8. Se va face înregistrarea locației și poziției probelor din echipamentele de depozitare.