

PROCEDIMENTO OPERATIVO NORMALIZADO
**SOP.BIO.001 – PROCESSAMENTO DE SANGUE
TOTAL**

PROCESSAMENTO DE SANGUE TOTAL

Responsável(is):

- Joana Batuca
- Ângela Afonso
- Marta Barreto
- Joana Lopes
- Ana Henriques
- Artur Paiva
- Rita Rendeiro
- Bruna Parreira

ELABORADO:

- Joana Batuca
- Ângela Afonso
- Marta Barreto
- Joana Lopes
- Ana Henriques
- Artur Paiva
- Rita Rendeiro
- Bruna Parreira

APROVADO:

Sérgio Dias

PROCEDIMENTO OPERATIVO NORMALIZADO
**SOP.BIO.001 – PROCESSAMENTO DE SANGUE
TOTAL**

ÍNDICE

1. OBJETIVO	3
2. INFORMAÇÃO DE SEGURANÇA.....	3
A. Interferências	3
3. EQUIPAMENTO / INFRA-ESTRUTURAS NECESSÁRIAS.....	3
4. DESCRIÇÃO / PROCEDIMENTO	3
4.1 Identificação da amostra.....	3
4.2. Procedimento	3
4.2.1 Separação e congelamento de <i>whole blood</i> :	3
4.2.2 Separação e congelamento de soro:.....	4
4.2.3 Separação e congelamento de Plasma:	4
A. Controlo de qualidade:	4
B. Back-up:.....	4
5. REGISTOS	5
A. Responsável(is):	5

PROCEDIMENTO OPERATIVO NORMALIZADO

SOP.BIO.001 – PROCESSAMENTO DE SANGUE TOTAL

1. OBJETIVO

Este Procedimento Operativo Normalizado define os protocolos de processamento, manipulação e congelamento de amostras de sangue e derivados, que serão preservadas no Biobanco.PT.

2. INFORMAÇÃO DE SEGURANÇA

Como se tratam de amostras biológicas humanas não é possível garantir a ausência de risco infeccioso, pelo que devem ser manuseadas com as precauções máximas de segurança indicadas nestas situações. O sangue deve ser processado apenas por profissionais com formação adequada. Durante todo o processo deverão ser usados bata, luvas e óculos.

A. Interferências

A fim de evitar a degradação das amostras, o processamento do sangue deverá ser realizado o mais rápido possível, de preferência entre 30 a 60 minutos após a colheita. Caso não seja possível o processamento imediato das amostras, estas deverão ser armazenadas a temperaturas entre os 2-8°C. As amostras deverão ser posteriormente processadas nas 24-48h seguintes.

3. EQUIPAMENTO / INFRA-ESTRUTURAS NECESSÁRIAS

- Tubos de colheita (p.e EDTA ou Heparina-Lítio para conservação de *whole blood*, separação de plasma e extração de DNA);
- Tubos de colheita (p.e gel sem anticoagulante para separação de soro);
- Arcas de ultracongelamento a -80 °C;
- Pipetas;
- Pontas estéreis;
- Criotubos estéreis de 1-2ml com tampa de rosca;
- Caixa para criotubos;
- Luvas descartáveis
- Centrífuga refrigerada

4. DESCRIÇÃO / PROCEDIMENTO

4.1 Identificação da amostra

As amostras devem ser inequivocamente identificadas no momento da colheita, devem ser rotuladas e tratadas de forma a que se respeite o direito de privacidade do dador de acordo com a lei n.º 12/2005, publicado no Diário da República.

Cada tubo deverá ser rotulado com uma identificação que posteriormente gerará um código com o número de identificação, o que garante a rastreabilidade da amostra e separação de dados pessoais e clínicos.

4.2. Procedimento

- i) Verificar se todas as amostras possuem a documentação necessária e registar informação relevante. Se algum dos documentos estiver em falta as amostras deverão ser colocadas na arca "Quarentena" e o responsável técnico do Biobanco deverá contactar a unidade ou pessoa responsável pelas amostras.
- ii) Registrar as amostras no sistema informático assim como os dados relevantes. Automaticamente será gerada uma etiqueta com um código.
- iii) Processar adequadamente a amostra de acordo com as suas especificações e congelar à temperatura adequada.

4.2.1 Separação e congelamento de *whole blood*:

- i) Inverter o tubo cuidadosamente cerca de 5 vezes; a inversão em excesso pode causar alterações na integridade da amostra.

SOP.BIO.001 – PROCESSAMENTO DE SANGUE TOTAL

- ii) Transferir o *whole blood* para um criotubo de 2ml, com rosca já devidamente etiquetado e aliquotar no volume apropriado. (Recomenda-se 2 aliquotas de 1ml cada)
- iii) Fechar bem o criotubo e colocar na arca a -80°C no local gerado automaticamente pelo software.

4.2.2 Separação e congelamento de soro:

- i) Inverter o tubo cuidadosamente cerca de 5 vezes; a inversão em excesso pode causar alterações na integridade da amostra. De forma a prevenir a degradação da amostra o processamento do soro deverá ser feito, preferencialmente nos 30-60 minutos após a colheita.
- ii) Garantir que a centrífuga está em boas condições e que os tubos estão devidamente fechados e equilibrados para evitar a rutura e o extravasamento.
- iii) Centrifugar a 800g durante 10 minutos à temperatura ambiente e com travão.
- iv) Remover os tubos da centrífuga cuidadosamente.
- v) Recuperar o soro assepticamente, utilizando uma pipeta de 1 ml e pontas descartáveis estéreis.
- vi) Transferir o soro para um criotubo de 2ml, com rosca já devidamente etiquetado aliquotar no volume apropriado. (Recomenda-se 6 aliquotas de 250ul cada)
- vii) Fechar bem o criotubo e colocar na arca a -80°C no local gerado automaticamente pelo software.

4.2.3 Separação e congelamento de Plasma:

- i) Inverter o tubo cuidadosamente cerca de 5 vezes; a inversão em excesso pode causar alterações na integridade da amostra.
- ii) Garantir que a centrífuga está em boas condições e que os tubos estão devidamente fechados e equilibrados para evitar a rutura e o extravasamento.
- iii) Centrifugar a 800g durante 10 minutos a 4°C e com travão.
- iv) Remover os tubos da centrífuga cuidadosamente.
- v) Recuperar o plasma assepticamente, utilizando uma pipeta de 1 ml e pontas descartáveis estéreis.
- vi) Transferir o plasma para um criotubo de 2ml, com rosca já devidamente etiquetado aliquotar no volume apropriado. (Recomenda-se 2 aliquotas de 500 ul cada)
- vii) Fechar bem o criotubo e colocar na arca a -80°C no local gerado automaticamente pelo software.

A. Controlo de qualidade:

Todos os equipamentos utilizados, como as pipetas, a centrífuga e a arca ultracongeladora, devem ser verificados, limpos e desinfetados regularmente de acordo com as recomendações do fabricante

B. Back-up:

As amostras serão armazenadas em dois conjuntos de alíquotas, cada conjunto numa arca diferente. Desta forma evita-se a sua perda no caso de incidentes técnicos no funcionamento das arcas.

PROCEDIMENTO OPERATIVO NORMALIZADO
**SOP.BIO.001 – PROCESSAMENTO DE SANGUE
TOTAL**

5. REGISTOS

Identificação dos registos	Indexação	Responsável pelo Arquivo

A. Responsável(is):

Joana Bатуca
-Ângela Afonso
-Marta Barreto
-Joana Lopes
-Ana Henriques
-Artur Paiva
-Rita Rendeiro
-Bruna Parreira