

Anexo A: Planilha de processamento de PBMC

Observação: Os campos desta planilha devem ser preenchidos à mão, com caneta.

Laboratório de processamento de amostras:		Protocolo:		
ID do participante (PTID/ PID):	Número da visita:	Tipo de visita:		
Data da coleta:	Hora da coleta:			
Data de início do processamento:	Hora de início de processamento:	Processado por (iniciais):		
Reagentes	Fabricante	Número do lote		Data de validade
DMSO				
FBS				
WDR: HBSS ou PBS (circule uma opção)				
Tubo de separação de células (barreira porosa)				
Meio de gradiente de densidade				
	Volume em mL (registrar como X.Y)			Data de validade
CPS	CPS	DMSO	FBS	1 dia útil (< 18hrs)
Dados a serem capturados durante o processamento				Amostra
Tipo de tubo de amostra (circule um ou registre "outro" tipo de tubo)				ACD / HEP / EDT Outro: _____
Condição sanguínea (circule uma ou mais; adicione comentários no verso, conforme necessário)				SAT/ HEM / CLT
Volume de sangue total utilizável medido (com precisão de 0,1 mL)				mL
Indique o método de processamento (circule uma opção)				CSTFB / overlay / underlay
Método de contagem: Nome do instrumento específico ou contagem manual (registrar no campo à direita)				
Volume de ressuspensão contínua de HBSS (ou outro WDR) (V) (registrado como X.Y)				mL
Concentração média de contagem de células (C)				x 10 ⁶ células/mL
Número total de células (T) = C x V				x 10 ⁶ células
Calcule a produção de células/mL do sangue total (Verificação de QC)= (T/Volume de sangue total útil)				x 10 ⁶ células/mL
Calcule o vol. de ressuspensão de CPS estimada (V1)=(T/15x10 ⁶ células/mL)(1 mL)				mL
Calcule o volume de ressuspensão de CPS final (Vf), (V1 arredondado para BAIXO para o mais próximo (X.0) mL inteiro)				mL
Calcule o número real de células por frasco N2 = (T/Vf) x V2; (V2=1 mL).				x 10 ⁶ células/tubo
Impresso e conteúdo/código de barras da etiqueta de QC do LDMS (iniciais da(s) pessoa(s) que realiza o QC)				
Data e hora do congelamento (ddMMMAaaa /HH:MM) (Explique na seção de comentários se não estiver dentro de 4 horas do tempo de início do processamento)				
Número de tubos criogênicos congelados no momento Observação: Deve ser igual ao volume de ressuspensão de CPS final para alíquotas de 1 mL (Vf).				
Conclua as entradas restantes no LDMS incluindo a contagem de células total e tempo de congelamento (iniciais)				

Anexo A: Planilha de processamento de PBMC Página 2 de 2

Observação: Os campos desta planilha devem ser preenchidos à mão, com caneta.

Laboratório de processamento de amostras:

PTID/PID:

Transferência de tubos criogênicos para caixa de armazenamento em freezer	
A pessoa que transferiu os tubos criogênicos para locais da caixa de armazenamento atribuídos pelo LDMS	
Data(ddMMMAaaa)/hora em que os tubos criogênicos foram transferidos da unidade de congelamento de taxa controlada para a caixa de armazenamento. (A amostra deve ser mantida a -80 °C durante a transferência)	
Revisão inicial (primária) (iniciais/data)	
Revisão final (secundária) (iniciais/data)	

Contagens de Hemocitômetro	Contagem total	Células viáveis	Não viável
Quadrado Nº1 (células/mm ²)			
Quadrado Nº2 (células/mm ²)			
Quadrado Nº3 (células/mm ²)			
Quadrado Nº4 (células/mm ²)			
Média de contagem de células por quadrado (células/mm ²)			
Fator de diluição de PBMC (1:DF*)			
Fator de hemocitômetro para células/mL	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
Concentração da contagem de células (C) = (Média de células/mm ²)(DF)(10 ⁴); converter em 10 ⁶ células/mL	Não aplicável	x 10 ⁶ células/mL	Não aplicável
% viabilidade = (Células viáveis 4 quadrados/células totais 4 quadrados) (100)	Não aplicável		Não aplicável

*Observação: Fator de diluição (DF) = (células das partes + fluido de diluição das partes)/ células das partes

Contagem de células automatizada (10 ³ /μl=10 ⁶ /mL)	Contagem Nº 1
Contagem de célula (C) como células x 10 ⁶ /mL	
Fator de diluição de PBMC (1:DF**)	
Concentração de células = (C)(DF)	x 10 ⁶ células/mL
% viabilidade (se aplicável)	

**Observação: Diluições para contadores automatizados são extremamente raras. Se estiver realizando contagens diretas, insira 1 na caixa DF e preencha a coluna.

Comentários, desvios de protocolo e informações adicionais não registrados em nenhuma outra parte desta planilha:
