

Apéndice A: Hoja de trabajo de procesamiento de PBMC

Nota: Los campos en esta hoja de trabajo deben llenarse a mano, con una pluma.

Laboratorio de procesamiento de la muestra:			Protocolo:		
ID del participante (PTID/PID):		Número de visita:		Tipo de visita:	
Fecha de extracción:			Hora de la extracción:		
Fecha de inicio del procesamiento:		Hora de inicio del procesamiento:		Persona que realiza el procesamiento (iniciales):	
Reactivos	Fabricante	Número de lote		Fecha de vencimiento	
DMSO					
FBS					
WDR: HBSS o PBS (encierre en un círculo una opción)					
Tubo de separación celular (material sintetizado)					
Medio de gradiente de densidad					
	Volumen en ml (registre como X.Y)			Fecha de vencimiento	
CPS	CPS	DMSO	FBS	1 día hábil (menos de 18 horas)	
Datos que se deben capturar durante el procesamiento				Muestra	
Tipo de tubo de muestra (encierre en un círculo una opción o registre "otro" tipo de tubo)				ACD/HEP/EDT Otro: _____	
Condición de la sangre (encierre en un círculo una o más opciones; agregue comentarios al reverso según sea necesario)				SAT/HEM/CLT	
El volumen medido de sangre completa utilizable (al 0.1 ml más cercano)				ml	
Indique el método de procesamiento (encierre en un círculo una opción)				CSTFB/métodos de colocación por encima/ debajo del medio de gradiente de densidad	
Método de recuento: Nombre del instrumento específico o recuento manual (registre en el campo a la derecha)					
Recuento del volumen de la nueva suspensión de HBSS (u otro WDR) (V) (registre como X.Y)				ml	
Concentración promedio del recuento de células (C)				x 10 ⁶ células/ml	
Cantidad total de células (T) = C x V				x 10 ⁶ células	
Cálculo del rendimiento de células/ml de la sangre completa (Control de QC)= (T/volumen de sangre completa utilizable)				x 10 ⁶ células/ml	
Cálculo estimado del volumen de la nueva suspensión en CPS (V1)=(T/15x10⁶ células/ml)(1 ml)				ml	
Cálculo del volumen final de la nueva suspensión en CPS (V _f), (V1 redondeado hacia ABAJO al ml completo más cercano [X.0])				ml	
Cálculo del número real de células por vial N2 = (T/V_f) x V2; (V2=1 ml)				x 10 ⁶ células/vial	
Impresión y control de calidad del contenido de la etiqueta/código de barras del LDMS (iniciales de la persona que realiza el control de calidad)					
Fecha y hora de congelamiento (ddMMMaaaa/HH:MM) (Explicar en la sección de comentarios si no se realiza dentro de las 4 horas de la hora de inicio del procesamiento)					
Cantidad de crioviales congelados realmente Nota: Debe ser igual al volumen final de la nueva suspensión en CPS para las alícuotas de 1 ml (V _f)					
Complete las entradas restantes del LDMS, incluido el recuento total de células y la hora de congelamiento (iniciales)					

Apéndice A: Hoja de trabajo de procesamiento de PBMC Página 2 de 2

Nota: Los campos en esta hoja de trabajo deben llenarse a mano, con una pluma.

Laboratorio de procesamiento de la muestra:

PTID/PID:

Transferencia de crioviales a la caja de almacenamiento en congelador	
Persona que transfirió los crioviales a las ubicaciones en la caja de almacenamiento asignadas por el LDMS	
Fecha (ddMMMAaaa)/hora a la que los crioviales se transfirieron del equipo de congelamiento a temperatura controlada a la caja de almacenamiento (la muestra se debe mantener a una temperatura de -80 °C durante la transferencia)	
Revisión inicial (primaria) (iniciales/fecha)	
Revisión final (secundaria) (iniciales/fecha)	

Recuentos con hemocitómetro	Recuento total	Células viables	Células no viables
Cuadrado n.º 1 (células/mm ²)			
Cuadrado n.º 2 (células/mm ²)			
Cuadrado n.º 3 (células/mm ²)			
Cuadrado n.º 4 (células/mm ²)			
Recuento de células promedio por cuadrado (células/mm ²)			
Factor de dilución de las PBMC (1:FD*)			
Factor del hemocitómetro para células/ml	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
Concentración del recuento celular (C) = (promedio de células /mm ²) (FD) (10 ⁴); convertir a 10 ⁶ células/ml	No corresponde	x 10 ⁶ células/ml	No corresponde
% de viabilidad = (Células viables en 4 cuadros/células totales en 4 cuadros) (100)	No corresponde		No corresponde

**Nota:* Factor de dilución (*Dilution Factor, FD*) = (porción de células + porción de líquido de disolución)/porción de células

Recuentos automatizados de células (10 ³ /μl = 10 ⁶ /ml)	Recuento n.º 1
Recuento de células (C) como células x 10 ⁶ /ml	
Factor de dilución de las PBMC (1:FD**)	
Concentración de células = (C)(FD)	x 10 ⁶ células/ml
% de viabilidad (si corresponde)	

***Nota:* Las diluciones para contadores automáticos son extremadamente poco comunes. Si se realizan recuentos directos, ingrese un 1 en el recuadro de DF y llene la columna.

Comentarios, desviaciones del protocolo e información adicional que no se capturaron en otro lado dentro de esta hoja de trabajo: