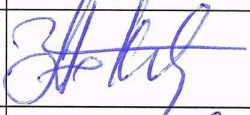
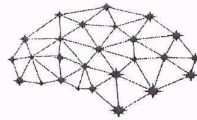


Код:	СОП-54-ПАО-04		
Название:	Стандартная операционная процедура: «Обработка и хранение образцов крови»		
Утвержден:	Приказом Председателя Правления АО «НЦН» № 08-3/346 от «31» августа 2022 года		
Разработчики:	Должность	ФИО	Подпись
	Заведующий Патологоанатомическим отделением	Жетписбаев Б.Б.	
	Начальник Отдела менеджмента научных исследований	Солодовников М.П.	
	Старший лаборант- гистолог Патологоанатомического отделения	Мукалыкова Л.Е.	
	Главный специалист Отдела менеджмента научных исследований	Боброва К.Н.	
Согласовано:	Медицинский Директор	Калиев А.Б.	
	Директор по стратегии и науке	Доскалиев А.Ж.	
	Начальник Отдела контроля качества и управления рисками	Бисмильдин Ф.Б.	
	Начальник Отдела правового обеспечения	Нурканова Б.С.	
	Заведующий Сектором санитарно- эпидемиологического контроля	Абилхадиров Ж.К.	
Версия № 1		Копия № _____ / _____ / _____ подпись _____ ФИО _____	

г. Нур-Султан, 2022



1. Введение

Целью настоящего СОП является подробное описание правильных методов обработки и хранения образцов крови участников исследования в биобанке.

2. Обязанности

Ответственные сотрудники биобанка будут нести ответственность за обеспечение правильной обработки и хранения образцов крови в лаборатории биобанка всех образцов.

3. Оборудование

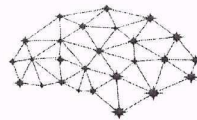
- Пробирка (с ЭДТА) с кровью субъекта;
- Пробирка (с активатором свертываемости) с кровью субъекта;
- Криопробирки;
- Центрифуга;
- Дозаторы с наконечниками;
- Глицерол.

4. Обработка образцов крови для хранения плазмы, лейкоцитарного слоя и сыворотки

- После транспортировки пробирок с кровью (1 пробирка с ЭДТА + 1 пробирка с активатором свертываемости), информированных согласий из отделения в биобанк, начинайте параллельное заполнение электронной базы данных (дата забора крови, наличие/отсутствие двух пробирок с кровью, дата обработки крови и т.д.).

- Пробирку с ЭДТА открутите в центрифуге (плазма отделяется после центрифугирования). Режим центрифугирования – 1000-1500G (2000-3000 об/мин), 10-30 минут (рекомендовано при температуре +4°C). После откручивания отберите верхний прозрачный слой - плазму в 2 криопробирки по 2 мл. Промаркируйте пробирки с плазмой (П1 или П2 - номер отделения-номер субъекта – номер полки в морозильнике – номер криобокса – номер ячейки в криобоксе). Укажите месторасположение (код) криопробирок с плазмой в электронной базе данных. Замораживаем пробирки на -80°C.

- Следующий слой из пробирки с ЭДТА - лейкоцитарный слой - в объеме 750 мкл отделяем и закапываем в следующую криопробирку. Добавьте 150 мкл глицерола (криопротектора). **Внимание:** глицерол необходимо заранее охладить, добавлять только охлажденным. После добавления глицерола – перемешать, переворачивая вверх-вниз 10 раз, чтобы глицерол не остался сверху. Промаркируйте пробирку с лейкоцитарным слоем (Л - номер отделения-номер субъекта – номер полки в морозильнике – номер криобокса – номер ячейки в криобоксе). Укажите месторасположение (код) криопробирки с лейкоцитарным слоем в электронной базе данных. Замораживаем пробирку на -80°C.



- Пробирку с активатором свертываемости перед центрифугированием подержите 30 минут при комнатной температуре. Отцентрифугировать пробирку со свернувшейся кровью не менее 10 минут с ускорением 1500G (примерно 3000 об/мин) для максимального выдавливания сыворотки из сгустка при температуре +4°C (рекомендуется). Отберите сыворотку в криопробирку, заранее промаркировав ее (С - номер отделения-номер субъекта – номер полки в морозильнике – номер криобокса – номер ячейки в криобоксе). Укажите месторасположение (код) криопробирки с сывороткой в электронной базе данных. Замораживаем пробирку на -80°C.

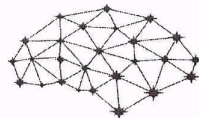
5. Правила центрифугирования

Центрифугирование – это важный этап пробоподготовки и служит для отделения жидкой части крови от клеток. Если центрифугирование выполнено с ошибками, то:

- осаждение клеток будет неполным, объем плазмы или сыворотки, получаемой для последующего анализа, уменьшится
- при использовании пробирок с гелем, если количество оборотов в минуту меньше, чем необходимо, гель не поднимется по стенкам пробирки и не будет выполнять роль разделительного элемента
- если количество оборотов больше, чем необходимо, то могут повреждаться клетки, что скажется на результатах анализа.

Убедитесь, что пробирки вставлены в ротор таким образом, что крышка не опирается на стенки стакана центрифуги, иначе крышка может соскочить с пробирки. Пробирки для исследования сыворотки следует центрифугировать не ранее, чем через 30 минут после взятия крови (чтобы гарантировать свертывание крови). Пробирки с сепарирующим гелем следует центрифугировать не позднее, чем через 2 часа после взятия крови.

Тип пробирки	Рекомендуемая относительная центробежная сила (ОЦС)	Рекомендуемое время центрифугирования (минуты)
Пробирки для исследования сыворотки	Минимум 1500 G	10
Пробирки для исследования сыворотки с сепарирующим гелем	1800g	10
Пробирки для исследования сыворотки с гранулами	1800g	10
Пробирки для исследования плазмы	2000-3000g	15
Пробирки для исследования плазмы с сепарирующим гелем	2200g	15



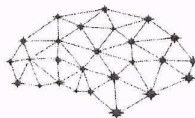
ВАЖНО:

ОЦС измеряется относительно дна пробирки при ее горизонтальном положении (ротатор центрифуги имеет свободно вращающиеся головки).

Для расчета ОЦС используется следующая формула: $ОЦС = 1,118 \times 10^{-5} \text{ rpm}^2 \times r$ (см), где rpm – количество оборотов в минуту, а r – радиус.

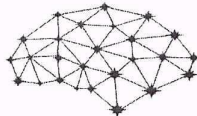
Примечание: радиус измеряется от центра вращения до дна пробирки при ее максимально удаленной расположении.

В центрифугах с горизонтальными откидывающимися стаканами образуется более стабильный гелевый барьер, чем в центрифугах с фиксированным углом наклона. Когда гелевый барьер уже сформировался, пробирки не следует центрифугировать повторно. Реологические свойства гелевого барьера зависят от температуры образца. Они могут изменяться при его охлаждении до или после центрифугирования. Чтобы реологические свойства были оптимальными, и образец во время центрифугирования не перегрелся, центрифугу с охлаждением следует установить на 24°C.



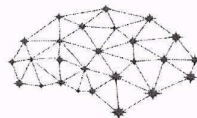
ЛИСТ УЧЕТА ПЕРИОДИЧЕСКИХ ПРОВЕРОК
«Обработка и хранение образцов крови»
СОП-54-ПАО-04

[illegible]



ЛИСТ РЕГИСТРАЦИИ ИЗМЕНЕНИЙ И ДОПОЛНЕНИЙ
к Стандартной операционной процедуре
«Обработка и хранение образцов крови»
СОП-54-ПАО-04

[illegible]



ЛИСТ ОЗНАКОМЛЕНИЯ
со Стандартной операционной процедурой
«Обработка и хранение образцов крови»
СОП-54-ПАО-04

[illegible]