CRYOGENE	PROCEDIMENTO SISTÊMICO		Página 1/5
Titulo:		Código	
Processamento do SCUP			PS 7.5.1 - 04
Aprovação:		Data de aprovação:	Revisão
Isabelle Rego Barros		28/08/2008	04

Quando impresso este documento, deverá estar identificado com o carimbo em vermelho como "Cópia Controlada" para ter validade.

1. Objetivo

Processar a unidade coletada de SCUP com a finalidade de manter sua viabilidade celular e reduzir a quantidade de eritrócitos e plasma para concentrar a fração leucocitária em um volume total menor.

2. Aplicação e Responsabilidade

Aplica-se a Cryogene – Criogenia Biológica Ltda, sendo de responsabilidade do responsável laboratorial e bióloga.

3. Vocabulário

• SCUP - Sangue de Cordão Umbilical e Placentário.

4. Equipamentos e Materiais

- HES ou HaesSteril;
- DMSO;
- Dextran;
- Heparina;
- Celmlise;
- Seringa de 3ml;
- Seringa de 20ml;
- Seringa de 60ml;
- Agulha 40x12;
- Sampling site coupler;

CRYOGENE	PROCEDIMENTO SISTÊMICO		Página 2/5
Titulo:			Código
Processamento do SCUP			PS 7.5.1 - 04
Aprovação:		Data de aprovação:	Revisão
Isabelle Rego Barros		28/08/2008	04

- Bolsa de coleta para sangue de cordão;
- Bolsa de transferência;
- Gaze;
- Tubo tipo eppendorf;
- Becker;
- Balança digital;
- Centrífuga refrigerada;
- Seladora manual;
- Capela de fluxo laminar;
- Contador celular;
- Extrator de plasma manual.

5. Seqüência de Atividades

PROCESSAMENTO PARA SANGUE TOTAL:

No	Quem?	O que?	Como e/ou Quando?	Seqüência
1		Início		4
				2
2	Responsável La- boratorial, Bióloga	Preparar para o inicio do processo	Realizar o procedimento no interior da capela de fluxo laminar, realizando assepsia da bolsa de sangue, adaptando o Sampling Site Coupler e preparando a solução crioprotetora: em uma bolsa de transferência de 400ml, colocar 80ml de HES e com leve agitação injetar 20ml de DMSO (para a proporção: 100ml de sangue, 100ml de solução crioprotetora).	→ 3

CRYOGENE	PROCEDIMENTO	PROCEDIMENTO SISTÊMICO	
Titulo:			Código
Processamento do SCUP			PS 7.5.1 - 04
Aprovação:		Data de aprovação:	Revisão
Isabelle Rego Barros		28/08/2008	04

Nº	Quem?	O que?	Como e/ou Quando?	Seqüência
3	Responsável La- boratorial, Bióloga	Desenvolver o processamento.	Abrir o lacre da bolsa de transferência e deixar fluir lentamente o SCUP para o interior da bolsa que contém a solução crioprotetora, misturando suavemente por agitação manual. Utilizando uma seringa de 60 ml transferir o SCUP com a solução crioprotetora para as bolsas de congelamento. Retirar as bolhas de ar. Retirar alíquotas para serem congeladas em criotubos (2 criotubos por bolsa). Selar as extensões das bolsas separadamente e cortar pequenos pedaços para serem congelados junto com as mesmas.	↓ 4
4		Fim		

PROCESSAMENTO PARA REDUÇÃO DE VOLUME EM BOLSA DE 250ML:

No	Quem?	O que?	Como e/ou Quando?	Seqüência
1		Início		4
				2
2	Responsável La- boratorial, Bióloga	Preparar para o inicio do processo	Realizar o procedimento no interior da capela de fluxo laminar, realizando assepsia da bolsa de SCUP. Retirar uma amostra para contagem celular. Na própria bolsa de coleta adicionar HES ou HaesSteril, na proporção de 1/5 do volume de SCUP, homogeneizar bem. Colocar a bolsa invertida dentro da centrífuga refrigerada, para ocorrer à sedimentação, por um período de 45 minutos a 2 horas (como padrão utilizar 1 hora).	→ 3

CRYOGENE	PROCEDIMENTO	PROCEDIMENTO SISTÊMICO	
Titulo:			Código
Processamento do SCUP			PS 7.5.1 - 04
Aprovação:		Data de aprovação:	Revisão
Isabelle Rego Barros		28/08/2008	04

Centrifugar à 100G, 4°C por 7 minutos, sem breque (programa 3 da centrifuga). Retirar as hemáceas deixando aproximadamente 2 a 3cm na bolsa. Centrifugar a bolsa à 400G, 4°C por 14 minutos, com breque (programa 4 da centrifuga). Colocar a bolsa no extrator de plasma , retirar o plasma em excesso com o auxilio de seringa de 60ml, deixando cerca de 2cm de plasma na bolsa. Homogeneizar bem, retirar uma amostra para contagem celular. Verificar o volume final não ser superior a 56ml. Verificar o volume do SCUP com seringa de 60ml. Ter cuidado para ovolume final não ser superior a 56ml. Verificar se o rendimento celular foi acima de 80%, caso não repetir todo o procedimento. Desenvolver o processamento. Responsável Laboratorial, Bióloga Desenvolver o processamento. Retirar a ficha para redução de volume para bolsa de 250ml para obter os cálculos necessários para a preparação da solução crioprotetora. Utilizando uma seringa de 60 ml transferir o SCUP com a solução crioprotetora para as a bolsas de congelamento. Retirar as bolhas de ar. Retirar alíquotas para serem congeladas em criotubos (2 criotubos por bolsa). Selar as extensões das bolsas separadamente e cortar pequenos pedaços para serem congelados junto com as mesmas.	Nº	Quem?	O que?	Como e/ou Quando?	Seqüência
Responsável Laboratorial, Bióloga Desenvolver o processamento. Desenvolver o processamento. Responsável Laboratorial, Bióloga Desenvolver o processamento. Utilizar a ficha para redução de volume para bolsa de 250ml para obter os cálculos necessários para a preparação da solução crioprotetora. Utilizando uma seringa de 60 ml transferir o SCUP com a solução crioprotetora para as bolsas de congelamento. Retirar as bolhas de ar. Retirar alíquotas para serem congeladas em criotubos (2 criotubos por bolsa). Selar as extensões das bolsas separadamente e cortar pequenos pedaços para serem congelados junto com as mesmas.	3		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	minutos, sem breque (programa 3 da centrífuga). Retirar as hemáceas deixando aproximadamente 2 a 3cm na bolsa. Centrifugar a bolsa à 400G, 4°C por 14 minutos, com breque (programa 4 da centrífuga). Colocar a bolsa no extrator de plasma, retirar o plasma em excesso com o auxílio de seringa de 60ml, deixando cerca de 2cm de plasma na bolsa. Homogeneizar bem, retirar uma	4 4
Responsável Laboratorial, Bióloga Desenvolver o processamento. Desenvolver o processamento. Desenvolver o processamento. Utilizando uma seringa de 60 ml transferir o SCUP com a solução crioprotetora para as bolsas de congelamento. Retirar as bolhas de ar. Responsável Laboratorial, Bióloga Desenvolver o processamento. Desenvolver o processamento. Desenvolver o processamento. Selar as extensões das bolsas separadamente e cortar pequenos pedaços para serem congelados junto com as mesmas.	4		· ·	Verificar o volume do SCUP com seringa de 60ml. Ter cuidado para o volume final não ser supe- rior a 56ml. Verificar se o rendimento celular foi acima de 80%, caso não repe-	• 5
transferir o SCUP com a solução crioprotetora para as bolsas de congelamento. Retirar as bolhas de ar. Responsável Laboratorial, Bióloga Desenvolver o processamento. Desenvolver o processamento. Retirar alíquotas para serem congeladas em criotubos (2 criotubos por bolsa). Selar as extensões das bolsas separadamente e cortar pequenos pedaços para serem congelados junto com as mesmas. Transferir o SCUP com a solução crioprotetora para as bolsas de congelamento. Retirar as bolhas de ar. 7	5		•	volume para bolsa de 250ml para obter os cálculos necessários para a preparação da solução	9 ←
	6		· ·	transferir o SCUP com a solução crioprotetora para as bolsas de congelamento. Retirar as bolhas de ar. Retirar alíquotas para serem congeladas em criotubos (2 criotubos por bolsa). Selar as extensões das bolsas separadamente e cortar pequenos pedaços para serem conge-	↓ 7
	7		Fim	and the second of the second of	

6. Informações complementares

Não se aplica

CRYOGENE	PROCEDIMENTO SISTÊMICO		Página 5/5
Fitulo:		Código	
Processamento do SCUP		PS 7.5.1 - 04	
Aprovação:		Data de aprovação:	Revisão
Isabelle Rego Barros		28/08/2008	04

7. Controle de registros da qualidade

Identificação	Proteção	Armazenamento	Recuperação	Tempo mí- nimo de Re- tenção	Descarte do Registro
Ficha de Pro- cessamento para redução para bolsa de 250ml	Meio físico no armário	Pasta dos Con- tratos	Cronológica	Indetermina- do	20 anos após o uso tera- pêutico
Ficha de Pro- cessamento para redução para bolsa de 25ml	Meio físico no armário	Pasta dos Con- tratos	Cronológica	Indetermina- do	20 anos após o uso tera- pêutico

8. Histórico das Revisões

Revisão 03:

- Inclusão do item 4 (equipamentos e materiais);
- Pequenos ajustes de formatação;
- Adequação de conteúdo