

24. Separação de soro e inativação do complemento

Este passo é realizado antes das técnicas sorológicas de soroneutralização, com o principal objetivo de inativar o sistema complemento, evitando assim que este seja formado o complex de ataque a membrana (C5-C9), tornando o soro tóxico para os cultivos celulares.

1. Para a coleta de sangue utilizar frascos sem anticoagulante.
2. Após a coleta, manter os frascos com sangue em banho-maria 37°C por 20 minutos, para facilitar a formação do coágulo e separação do soro. Para melhor separação, pode-se desprender o coágulo da parede do tubo com o auxílio de uma ponteira e incubar na geladeira por algumas horas.
3. Centrifugar por, aproximadamente, 8 minutos: frascos grandes – 3500 rpm e microtubos – 7500 rpm
4. Coletar o soro com o auxílio de um pipetador, de forma que não sejam pipetadas células sanguíneas. Acondicionar o soro em microtubos identificados, cuidando para que o soro que não ultrapasse a linha de volume máximo, a fim de evitar extravasamento no momento do congelamento.
5. Para inativar o soro, colocar os microtubos em um suporte de metal, transferindo os mesmos para banho-maria a 56°C, por 30 minutos.
6. Congelar as amostras no freezer – 20°C até o uso.