

Prelucrarea și Depozitarea Lichidului Cefalorahidian (LCR) pentru Biobancă

1.0 Scop

Crearea unor proceduri standardizate pentru biobănci în vederea prelucrării și depozitării lichidului cefalorahidian de la participanți care și-au dat în prealabil acordul pentru prelucrarea probelor.

2.0 Responsabilități

LCR-ul este recoltat de către personalul calificat, în centre de recoltare, spitale sau cabinete medicale, iar prelucrarea ulterioară și depozitarea intră în responsabilitatea personalului biobăncii.

3.0 Metoda de prelucrare

3.1 Program de recoltare și condiții de transport

3.1.1 Personalul medical responsabil de recoltarea LCR trebuie să contacteze personalul biobăncii în cel mai scurt timp, în așa fel încât probele să ajungă la biobancă pentru a fi prelucrate. După recoltare, transportul probelor se poate face la 4°C sau max. 22°C. Timpul scurs de la recoltare până la depozitare (-80°C) nu trebuie să depășească 2 ore. În cazul în care se au în vedere studii citometrice, acestea trebuie realizate în cel mai scurt timp, deoarece numărul celulelor scade foarte rapid (1 oră).

3.2 Verificare datelor de identificare

3.2.1 Personalul biobăncii trebuie să verifice dacă datele participantului la studiu corespund cu datele de pe tuburile de recoltare. Se notează următoarele informații:

- data și ora recoltării probelor (important pentru studierea unor biomarkeri influențați de ritmul circadian)
- diagnosticul suspectat
- vârsta pacientului (anumite disfuncționalități sunt legate de vârstă)
- volumul total de LCR recoltat (necesar pentru numărarea celulelor)

-examenul macroscopic (normal-limpede; patologic-hemoragic, purulent, tulbure)

- alte observații

3.3. Prelucrarea LCR

3.3.1. Se transferă LCR din tubul de recoltare într-un falcon steril de 15 ml în vederea centrifugării.

3.3.2. Dacă celulele se depozitează pentru o izolare ulterioară a ARN, atunci LCR se va centrifuga 10 min, la RT, 400g.

3.3.3. Dacă nu se au în vedere studii ulterioare a ARN, LCR se centrifughează 10 min, la RT, 2000g.

3.3.4. După centrifugare, supernatantul se transferă (alicotează 0.3-0.5 mL supernatant) în criotuburi. Se depozitează la -80°C (congelator/azot lichid)

3.3.5. Celulele (pellet) se îngheață imediat la -80°C sau se adaugă peste ele un buffer necesar preservării acestora pentru studii ulterioare (ex. RNAlater)

3.3.6. Se va face înregistrarea locației și poziției probelor din echipamentele de depozitare.