

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL	Número: POP TEC 033
		Edição: 05
Área: Laboratório de Patologia Cardíaca		Página: 1/4
Assunto: P18/01 - Vesículas Extracelulares Dra Maria L. Higuchi/Camila R. Moreno ,Registro de Entrada Limpeza do Local		Vigência: 08/03/2021

*ÍNDICE

1. OBJETIVO
2. ABRANGÊNCIA
3. RESPONSABILIDADES
4. DOCUMENTOS COMPLEMENTARES
5. DEFINIÇÕES
6. DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS
7. FLUXOGRAMAS
8. ANEXOS
9. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

Edição	Alteração
01	Emissão inicial do documento em 27/07/2015. <i>Nota: inicialmente o conteúdo deste documento estava disponível no ONADOCS , POP 060; com data de vigência de 27/07/2015.</i>

Elaborado por: Suely Aparecida Pinheiro Palomino Biologista	27/07/2015	Aprovado por: Prof.Dra Maria Lourdes Higuchi Pesquisadora	15/03/21
--	------------	--	----------

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL	Número: POP TEC 033
		Edição: 05
Área: Laboratório de Patologia Cardíaca		Página: 2/4
Assunto: P18/01 - Vesículas Extracelulares Dra Maria L. Higuchi/Camila R. Moreno ,Registro de Entrada Limpeza do Local		Vigência: 08/03/2021

1. OBJETIVO

- 1.1 Estabelecer normas para.o Registro no Laboratório de Patologia da Pesquisa P18/01

2. ABRANGÊNCIA

- 2.1 Todos os colaboradores, alunos e estagiário

3. RESPONSABILIDADES

- 3.1 Todos os profissionais que realizarem o Registro.de entrada no Laboratório Pstologia da P18/01

4. DOCUMENTOS COMPLEMENTARES

- 4.1 Não aplicável.

5. DEFINIÇÕES

- 5.1 Registro Geral da Pesquisa e Roteiro : P18/01- Estudo de novos biomarcadores de instabilidade da placa, no soro de pacientes com Aterosclerose ou sem Aterosclerose,e com ou sem infarto agudo do miocárdio.

6. DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

- 6.1.1 Um dia antes da coleta do sangue, os médicos responsáveis entrarão em contato com o laboratório (Camila/Marcia e Suely – ramal 5098, Dra Lourdes – ramal 5541, Joyce/Jaqueline – ramal 5047, Renata – ramal 5254 e Camila (pessoal) 11982472269). O sangue dos pacientes será coletado pela Unidade Clínica de Emergência Referênciada(andar Térreo, Pronto Socorro – ramal 0400, responsável Dr. Alexandre), pelo Ambulatório Unidade de Pesquisa MASS (andar AB, Sala 114 – ramal 5032, 5227, responsável Dr. Whady) e pela Unidade Clínica Ambulatório Geral (andar AB – ramal 5237 ou 5247, responsável Dr. Alfredo) em seguida o laboratório é notificado,para retirar os tubos contendo sangue e o termo de consentimento de cada paciente.

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL	Número: POP TEC 033
		Edição: 05
Área: Laboratório de Patologia Cardíaca		Página: 3/4
Assunto: P18/01 - Vesículas Extracelulares Dra Maria L. Higuchi/Camila R. Moreno ,Registro de Entrada Limpeza do Local		Vigência: 08/03/2021

- 6.1.2 Consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar
- 6.1.3 Amostras: 1 tubo seco (vermelho c/ anel amarelo - contendo gel separador ativador de coagulo)de 10 ml com sangue sem anticoagulante (soro). O material será registrado no computador 08/Márcia (Suely/ Camila):
- 6.1.4 Pasta no computador : PATOLOGIA 08 → PASTA COMPARTILHADA → : REGISTRO→LAB PATOL CARDIACA→:REGISTRO GERAL2018 → PLANILHA P18/01. O número será dado para cada caso, seguindo a ordem de entrada
- 6.1.5 Amostras: 1 tubo seco de 10 ml com sangue sem anticoagulante,Serão analisados o soro dos seguintes grupos
- ★ G1 (N=40) - IAM, com elevação ST, que sobreviveram a 30 dias pós-infarto
 - ★ G2 (N=40) - IAM, com elevação ST, e que foram a óbito antes de 30 dias pós-infarto
 - ★ G3 (N=40) - sem aterosclerose (grupo controle)
 - ★ G4 (N=40) - aterosclerose estável
- 6.1.6 A separação das vesículas extracelulares do soro, em pellet e sobrenadante, seguirá o protocolo descrito no POP TEC 019. A inclusão rápida seguirá o protocolo descrito no POP TEC 022. A identificação dos blocos, trimagem dos blocos e preparo de película de Parlódio seguirá o protocolo descrito no POP TEC 023.
- 6.1.7 A reação de imunomarcção de ouro anti-micoplasma e anti- metaloproteinase 9(MMP9)seguirá o protocolo descrito no POP TEC 016.
A reação de Hibridização *in situ* (HIS) com sonda Mycoplasma pneumoniae e ARCH 915 marcada com ouro coloidal 10 nm seguirá o protocolo descrito no POP TEC 017.
- 6.1.8 As amostras serão processadas por Western Blotting e Zimografia, a fim de determinar a expressão proteica e atividade enzimática. Os soros dos pacientes serão analisadas pelo Citometro de Fluxo, realizandoimunomarcção com anticorpos para LDL-ox, M. pneumoniae, DNA de Archaea, MMP9 e citocinas inflamatórias.A quantificação rápida e automatizada do número de micro e nanovesículas, tamanho e conteúdo, será realizada através da técnica de rastreamento pelo Nanosight.
- 6.2 **Limpeza,** Após o Registro do material, limpar com uma gaze com álcool 70°C,, o local, guardar o material utilizado e encaminhar o sangue para o Setor responsável. Conservar o local limpo e organizado

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL	Número: POP TEC 033
		Edição: 05
Área: Laboratório de Patologia Cardíaca		Página: 4/4
Assunto: P18/01 - Vesículas Extracelulares Dra Maria L. Higuchi/Camila R. Moreno ,Registro de Entrada Limpeza do Local		Vigência: 08/03/2021

7. FLUXOGRAMAS

6.1 Não aplicável.

7. ANEXOS

7.1 Não aplicável.

8. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- 8.1 Técnicas Básicas de Microscopia Eletrônica Aplicadas às Ciências Biológicas, Antonio Haddad et al, 1998
- 8.2 Manual sobre Técnicas Básicas em Microscopia Eletrônica, Antonio Haddad et al, 1989