

<b>TÍTULO</b> TIPO: POP	<b>PROCEDIMENTOS DE UTILIZAÇÃO DAS SUBUNIDADES DE CITOMETRIA DE FLUXO – RPT08D, RPT08E E RPT08G</b>	<b>CÓDIGO</b> <b>RPT08D-54</b>
		CLASSIFICAÇÃO SIGDA: 013.1
<b>PALAVRA-CHAVE</b> CITOMETRIA; IMUNOFENOTIPAGEM; PLATAFORMA.		<b>REVISÃO</b> <b>04</b>

**SUMÁRIO**

1. Objetivo
2. Campo de Aplicação
3. Documentos Associados
4. Definições
5. Siglas
6. Condições Gerais
7. Procedimentos
8. Responsabilidades
9. Referências Bibliográficas
10. Anexos

A - Protocolo de Entrada de Material

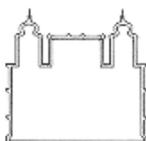
**1. OBJETIVO**

Este POP fixa condições, padroniza, define e estabelece regras que devem ser aplicadas para a utilização das subunidades de Citometria de Fluxo RPT08D, RPT08E e RPT08G da Rede de Plataformas Tecnológicas.

**2. CAMPO DE APLICAÇÃO**

Este POP aplica-se a todos os usuários das subunidades RPT08D, RPT08E e RPT08G da Plataforma de Citometria de Fluxo.

<b>ELABORADO</b> ANA BEATRIZ QUEIROZ	<b>VERIFICADO</b> BRUNA DINIZ FRIAS	<b>APROVADO</b> ANA CAROLINA AZEVEDO	<b>DATA</b>	<b>PÁGINAS</b> 9
-----------------------------------------	----------------------------------------	-----------------------------------------	-------------	---------------------



<b>TÍTULO</b> <b>TIPO: POP</b>	<b>PROCEDIMENTOS DE UTILIZAÇÃO DAS SUBUNIDADES DE CITOMETRIA DE FLUXO – RPT08D, RPT08E E RPT08G</b>	<b>CÓDIGO</b> <b>RPT08D-54</b>
-----------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------

### 3. DOCUMENTOS ASSOCIADOS

SINFE-05 Manutenção de equipamentos

### 4. DEFINIÇÕES

Flow Jo: Ferramenta para análise de dados em citometria de fluxo

FCAP: Ferramenta para análise de dados em citometria de fluxo

### 5. SIGLAS

RPT	Rede de Plataformas tecnológicas
SINFE	Serviço de Infra- Estrutura

### 6. CONDIÇÕES GERAIS

#### 6.1. Pré-requisitos para ser um usuário da plataforma

Só será aceito o usuário que tiver seu cadastro aprovado pelo Sistema da Rede de Plataformas Tecnológicas da Fiocruz (<http://plataformas.cdts.fiocruz.br>).

A plataforma atenderá prioritariamente:

- 1) Projetos vinculados aos Programas de Fomento da VPPLR;
- 2) Demandantes da Unidade onde a plataforma se encontra;
- 3) Demandantes das outras Unidades da Fiocruz;
- 4) Instituições públicas de pesquisa e ensino;
- 5) Instituições privadas em DT e ensino.

Projetos que não se insiram nos itens acima serão analisados individualmente.

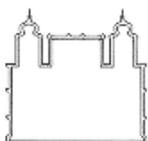
#### 6.2. Subunidades disponíveis:

Subunidade RPT08D – FacsCan

Subunidade RPT08E – Facscalibur

Subunidade RPT08G – FacsAria II

As solicitações dos demais equipamentos (LSR Fortessa, FacsVerse, Bioplex 200, ImageStream) deverão ser realizadas na subunidade RPT08G.



<b>TÍTULO</b> <b>TIPO: POP</b>	<b>PROCEDIMENTOS DE UTILIZAÇÃO DAS SUBUNIDADES DE CITOMETRIA DE FLUXO – RPT08D, RPT08E E RPT08G</b>	<b>CÓDIGO</b> <b>RPT08D-54</b>
-----------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------

As solicitações de chaves de FlowJo deverão ser realizadas na subunidade RPT08D ou RPT08E.

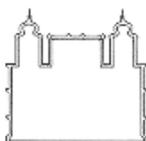
### 6.3. Critérios de atendimento

- a) O coordenador do grupo deverá cadastrar o seu Grupo de Pesquisa através do Sistema da RPT (<http://plataformas.cdts.fiocruz.br>).
- b) Após a aprovação do seu Grupo de Pesquisa pela coordenação da RPT, o coordenador do grupo deverá cadastrar os seus colaboradores. Cada colaborador cadastrado deverá preencher e entregar o Plano de Estudo (<http://www.cpqrr.fiocruz.br/pg/>) assinado, inclusive pelo coordenador. Assim, tanto o coordenador do Grupo de Pesquisa quanto os seus colaboradores já podem encaminhar as solicitações para a subunidade em questão.
- c) Antes de fazer a solicitação no sistema da Plataforma online, o usuário deverá fazer o agendamento diretamente com o técnico responsável.
- d) A solicitação no sistema da Plataforma online deverá ser feita antes do uso dos equipamentos. Todas as solicitações precisam ser aprovadas pelo coordenador do Grupo de Pesquisa. Após a aprovação, elas são enviadas automaticamente pelo Sistema, aos responsáveis pela subunidade. Após a aprovação pelo responsável pela subunidade, o usuário receberá um e-mail comunicando o agendamento.
- e) A solicitação online deverá ser preenchida integralmente. No campo "Identificação das amostras", inserir a identificação numérica (Data seguida de número de amostras que serão adquiridas ou analisadas: EX: 18052015.001 a 18052015.100). E em "Quantidade", inserir o número de amostras.

## 7. PROCEDIMENTO

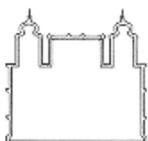
### 7.1. Autorização de uso e tipo de serviços

A Plataforma de Citometria de Fluxo oferece 7 equipamentos com condições diferenciadas de uso e serviço, conforme tabela abaixo:



<b>TÍTULO</b> <b>TIPO: POP</b>	<b>PROCEDIMENTOS DE UTILIZAÇÃO DAS SUBUNIDADES DE CITOMETRIA DE FLUXO – RPT08D, RPT08E E RPT08G</b>	<b>CÓDIGO</b> <b>RPT08D-54</b>
-----------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------

<b>Equipamento</b>	<b>Apto para uso</b>	<b>Tipos de Serviços</b>
FACSCan (3 canais de fluorescência)	Assessor científico, apoio técnico e usuários treinados	<ul style="list-style-type: none"><li>• Análise Fenotípica</li><li>• Viabilidade e proliferação celular</li><li>• Apoptose e ciclo celular</li><li>• Análise de citocinas e quimiocinas e outros fatores solúveis</li><li>• Perfil de imunoglobulinas e micropartículas</li><li>• Análise de dados no programa FlowJo</li></ul>
FACSCalibur (4 canais de fluorescência)	Assessor científico, apoio técnico e usuários treinados	<ul style="list-style-type: none"><li>• Análise Fenotípica</li><li>• Viabilidade e proliferação celular</li><li>• Apoptose e ciclo celular</li><li>• Análise de citocinas e quimiocinas e outros fatores solúveis</li><li>• Perfil de imunoglobulinas e micropartículas</li><li>• Análise de dados no programa FlowJo</li></ul>
LSRFortessa (11 canais de fluorescência)	Assessor científico, apoio técnico e usuários treinados	<ul style="list-style-type: none"><li>• Análise multiparamétrica de alta complexidade</li><li>• Viabilidade e proliferação celular</li><li>• Apoptose e ciclo celular</li><li>• Análise de citocinas e quimiocinas e outros fatores solúveis</li><li>• Perfil de imunoglobulinas e micropartículas</li><li>• Análise de dados no programa FlowJo e DIVA</li></ul>

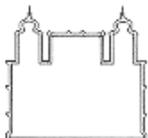


<b>TÍTULO</b> <b>TIPO: POP</b>	<b>PROCEDIMENTOS DE UTILIZAÇÃO DAS SUBUNIDADES DE CITOMETRIA DE FLUXO – RPT08D, RPT08E E RPT08G</b>	<b>CÓDIGO</b> <b>RPT08D-54</b>
-----------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------

FACSAria II (13 canais de fluorescência)	Responsável Técnico e assessor científico treinado	<ul style="list-style-type: none"><li>• Sorting de alta velocidade</li><li>• Análise multiparamétrica de alta complexidade</li><li>• Análise de dados no programa FlowJo e DIVA</li></ul>
FACSVerse	Responsável Técnico e assessor científico treinado	<ul style="list-style-type: none"><li>• Análise multiparamétrica de alta complexidade</li><li>• Análise de citocinas e quimiocinas e outros fatores solúveis</li><li>• Análise de dados no programa Suite, FlowJo e FCAP</li></ul>
Bioplex 200	Responsável Técnico e assessor científico treinado	<ul style="list-style-type: none"><li>• Análise de citocinas e quimiocinas e outros fatores solúveis</li><li>• Análise de dados no programa xPONENTE</li></ul>
ImageStream	Responsável Técnico e assessor científico treinado	<ul style="list-style-type: none"><li>• Análise de imagem multiparamétrica de alta complexidade</li><li>• Análise de dados no programa de imagem IDEAS</li></ul>

## 7.2. Condições de aceitação das amostras

- Será responsabilidade do usuário o fornecimento de informações sobre os cuidados de biossegurança das amostras.
- O usuário é responsável pelo retorno da amostra ao seu laboratório e/ ou descarte.
- As amostras somente serão aceitas quando acompanhadas do formulário *Protocolo de Entrada de Material* (<http://www.cpqrr.fiocruz.br/pg/>, ANEXO A) preenchendo corretamente todos os campos do formulário. Os dados fornecidos no Protocolo são de responsabilidade exclusiva dos usuários.

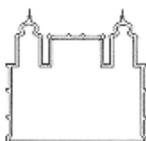


<b>TÍTULO</b> <b>TIPO: POP</b>	<b>PROCEDIMENTOS DE UTILIZAÇÃO DAS SUBUNIDADES DE CITOMETRIA DE FLUXO – RPT08D, RPT08E E RPT08G</b>	<b>CÓDIGO</b> <b>RPT08D-54</b>
-----------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------

- d) Os usuários só poderão usar os equipamentos (FacsCan, FacsCalibur e LSR Fortessa) após treinamento e preenchimento do formulário “Declaração de Treinamento interno”.
- e) O usuário, devidamente treinado, que for utilizar a Plataforma de Citometria de Fluxo, fora do horário comercial, deverá solicitar ao técnico responsável, uma autorização para utilizar os equipamentos. Essa autorização ficará disponível na portaria. O usuário deverá avisar com antecedência, para que se tenha tempo hábil para comunicar ao Setor de Infraestrutura.
- f) O usuário deverá assinar o caderno de Controle do uso da sala, assim que retirar a chave, na portaria. Ao devolver a chave, deverá assinar novamente o caderno.
- g) O usuário deverá assinar o registro de uso dos equipamentos, toda vez que for realizar leitura, que se encontra afixado em cada equipamento.
- h) Qualquer eventualidade, o técnico deverá ser comunicado, para que as devidas providências sejam tomadas.
- i) O usuário deverá cancelar o agendamento com o responsável técnico, caso desista do serviço para aquele agendamento.
- j) O uso de EPI's (jaleco, luva e calçado fechado) é obrigatório durante a aquisição das amostras.

### 7.3. Entrega de materiais

- a) Todo o material a ser processado deverá estar acompanhado de alguém da equipe responsável pelo projeto, que deverá prestar eventuais esclarecimentos, caso seja necessário.
- b) Local e horários para entrega dos materiais: Os materiais deverão ser entregues, juntamente ao Protocolo de Entrada pelo usuário no horário previamente agendado pelo Sistema da RPT. As subunidades RPT08D, RPT08E e RPT08G estão localizadas na sala 207.
- c) A aquisição das amostras no citômetro será realizada pelo técnico responsável ou por alguém da equipe responsável pelo projeto, desde que devidamente treinado.



<b>TÍTULO</b> <b>TIPO: POP</b>	<b>PROCEDIMENTOS DE UTILIZAÇÃO DAS SUBUNIDADES DE CITOMETRIA DE FLUXO – RPT08D, RPT08E E RPT08G</b>	<b>CÓDIGO</b> <b>RPT08D-54</b>
-----------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------

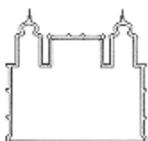
#### 7.4. Análise e Entrega dos resultados

- a) Os usuários podem realizar a análise dos dados no próprio software disponibilizado pelo equipamento, na estação off-line de análise ou por meio do uso da chave do FlowJo, ou FCAP (ferramentas para análise de dados). No caso do uso da chave do FlowJo, a análise poderá ser feita em qualquer computador da instituição, obedecendo o período de meio horário (7:15 às 12:00 ou 13:00 às 17:15). Em todas as situações será necessário o agendamento prévio através do Sistema da RPT (<http://plataformas.cdts.fiocruz.br>). A solicitação online deverá ser preenchida integralmente. No campo “Identificação das amostras”, inserir a identificação numérica (Data seguida de número de amostras que serão adquiridas ou analisadas: EX: 18052015.001 a 18052015.100).
- b) O prazo de entrega dos resultados, analisados em software próprio, será de quinze (15) dias a contar da entrega dos dados obtidos em mídia digital. O resultado deve ser enviado por email, para o responsável técnico da Plataforma. O usuário que estiver com 3 ou mais resultados pendentes, ficará impossibilitado de utilizar os serviços da Plataforma, até que regularize a entrega dos mesmos.
- c) Os resultados obtidos serão disponibilizados através do Sistema da RPT (<http://plataformas.cdts.fiocruz.br>).
- d) Os dados originais obtidos serão arquivados em mídia digital (CD ou DVD) portada pelo usuário, sendo uma cópia entregue ao próprio usuário e uma segunda cópia arquivada pela plataforma.
- e) Software e análise de resultados: Conforme citado acima.
- f) O usuário deverá comunicar à Plataforma sobre a publicação de artigos e/ou relatórios científicos.

#### 8. RESPONSABILIDADES

É responsabilidade do usuário mencionar a Plataforma de Citometria de Fluxo nos artigos e/ou relatórios científicos e fornecer as informações sobre os cuidados de biossegurança das amostras e o retorno da amostra ao seu laboratório e/ou descarte.

É responsabilidade do responsável pela plataforma o agendamento de horários e suporte no uso dos serviços oferecidos.



<b>TÍTULO</b> <b>TIPO: POP</b>	<b>PROCEDIMENTOS DE UTILIZAÇÃO DAS SUBUNIDADES DE CITOMETRIA DE FLUXO – RPT08D, RPT08E E RPT08G</b>	<b>CÓDIGO</b> <b>RPT08D-54</b>
-----------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------

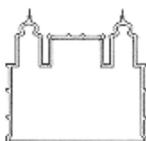
## 9.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Não aplicável

## 10.ANEXOS

CÓPIA NÃO CONTROLADA

/ANEXO A



<b>TÍTULO</b> <b>TIPO: POP</b>	<b>PROCEDIMENTOS DE UTILIZAÇÃO DAS SUBUNIDADES DE CITOMETRIA DE FLUXO – RPT08D, RPT08E E RPT08G</b>	<b>CÓDIGO</b> <b>RPT08D-54</b>
-----------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------

**ANEXO A**

**Protocolo de Entrada de Material**



DA

**Protocolo de Entrada de Material**

Número da Solicitação:		Data do Serviço:	
Responsável pela Solicitação:	Projeto:		
E-mail:		Telefone:	
Grupo de Pesquisa		Unidade:	

**TIPO DE AMOSTRA:**

<input type="checkbox"/> Sangue <input type="checkbox"/> Leucócitos <input type="checkbox"/> Células mononucleares do sangue periférico (PBMC) <input type="checkbox"/> Soro <input type="checkbox"/> Plasma <input type="checkbox"/> Sobrenadante de culturas <input type="checkbox"/> Outros – Especificar:
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

**CONDIÇÕES DE ACONDICIONAMENTO DAS AMOSTRAS PARA TRANSPORTE:**

--

**CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA:**

Número de Amostras (tubos):
Número de parâmetros:
Número de eventos:
Risco Biológico – Descrição do Patógeno:
Outros:
Protocolo contendo informações sobre Anticorpos e Fluorocromos/amostra (tubo):

Responsável pela entrega da(s) amostra(s):
Responsável pelo recebimento da(s) amostra(s):

RPT08D - 54 Anexo A Rev 04