



COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE INFRAESTRUTURA DE PESQUISA

NORMAS DE USO DE EQUIPAMENTO MULTIUSUÁRIO

Equipamento Multiusuário: Citômetro de Fluxo Attune NxT – Patrimônio nº 009707

Informações sobre o equipamento multiusuário:

1. O equipamento multiusuário **Citômetro de Fluxo Attune NxT**, adquirido por meio da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), CHAMADA PÚBLICA PROINFRA 2021, Referência 0252/22, código nº 01.22.0391, que está instalado no prédio do Laboratório de Anatomopatologia (LAMP) também nomeado Patologia Veterinária dentro do Laboratório de Cultura de Células, no Centro de Ciências Agrárias (CCA), Departamento de Patologia da Universidade Estadual do Maranhão;
2. O **Citômetro de Fluxo Attune NxT** é um citômetro de fluxo de bancada que utiliza tecnologia de focalização acústica (Acoustic Focusing Technology), permitindo maior velocidade de aquisição, maior precisão analítica e redução do entupimento do sistema. O equipamento permite análises multiparamétricas de populações celulares por meio da detecção simultânea de múltiplos fluorocromos. O sistema permite a avaliação de parâmetros físicos celulares, incluindo o tamanho por granulometria e a quantificação de marcadores de superfície e intracelulares por fluorescência.
3. A flexibilidade do citômetro de fluxo permite a aplicação em diversas áreas do conhecimento técnico e científico: imunologia, oncologia, patologia clínica, biologia celular, biotecnologia, doenças parasitárias e infecciosas (quantificação de populações leucocitárias e imunofenotipagem), medicina humana e veterinária (estudos de proliferação, apoptose e ativação celular);
4. O equipamento é destinado à análise de amostras previamente processadas e marcadas com anticorpos monoclonais conjugados a fluorocromos compatíveis com a configuração óptica do equipamento;
5. O equipamento encontra-se configurado com laser azul (488 nm) e laser vermelho (637 nm), permitindo a detecção de fluorocromos compatíveis com esses comprimentos de onda. Dessa forma, recomenda-se que os usuários consultem



COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE INFRAESTRUTURA DE PESQUISA

NORMAS DE USO DE EQUIPAMENTO MULTIUSUÁRIO

previamente a equipe técnica antes da aquisição de anticorpos fluorescentes, a fim de verificar a compatibilidade dos fluorocromos com a configuração óptica do equipamento.

Regras de uso do Citômetro de Fluxo Attune NxT:

1. A utilização do equipamento deverá ser solicitada mediante preenchimento de ficha de agendamento disponível de forma física no próprio Laboratório de Cultura de Células, junto a técnica responsável. A solicitação deve ser realizada com antecedência mínima de 7 dias úteis em relação à data pretendida;
2. O agendamento estará sujeito à disponibilidade do equipamento e da técnica https://equipamentosmultiusuarios.uema.br/?page_id=244&preview=true&citometrodefluxoAttuneNxT
3. O solicitante deverá ser o responsável pela pesquisa, podendo indicar um usuário treinado para acompanhar os procedimentos;
4. Os usuários deverão observar e cumprir todas as normas de biossegurança vigentes no laboratório;
5. O acesso às dependências onde o equipamento está instalado será permitido apenas mediante autorização prévia da técnica;
6. Poderá ser solicitada pela técnica cópia resumida do projeto de pesquisa, bem como informações adicionais sobre os objetivos experimentais;
7. Os responsáveis pelo equipamento não possuem responsabilidade pela interpretação dos resultados obtidos, armazenamento dos dados ou elaboração de análises estatísticas;
8. Os usuários deverão mencionar a utilização do equipamento em dissertações, teses, artigos científicos e demais produtos acadêmicos oriundos dos dados gerados;
9. Os dias e horários para uso do equipamento e interação com o técnico serão os seguintes: de segunda a sexta-feira, pela manhã: das 9 às 12 horas e pela tarde, das 14 horas às 17 horas;



COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE INFRAESTRUTURA DE PESQUISA

NORMAS DE USO DE EQUIPAMENTO MULTIUSUÁRIO

10. O acesso às dependências onde o equipamento está instalado exige conhecimento e cumprimento das recomendações gerais do Laboratório de Cultura de células da UEMA;
11. O laboratório poderá suspender temporariamente o uso do equipamento em casos de manutenção preventiva, corretiva ou intercorrências técnicas;
12. O usuário é responsável por quaisquer danos decorrentes de uso inadequado ou descumprimento destas normas. Por isso é enfatizada a presença de técnica responsável para aquisição de células;
13. Os usuários deverão manter o ambiente organizado e adequado às condições de trabalho antes e após a utilização;
14. Eventuais custos operacionais relacionados à manutenção preventiva, corretiva e aquisição de insumos poderão ser compartilhados entre os usuários mediante definição prévia dos responsáveis pelo equipamento;
15. Essas Normas se aplicam a todas as pessoas (docentes, funcionários, alunos de graduação, pós-graduação, bolsistas de iniciação científica e pesquisadores) que utilizem o equipamento e necessitem de acesso autorizado nas dependências em que ele está instalado;
16. Os usuários são obrigados a mencionar o apoio da FINEP, Referência 0252/22, em todos os trabalhos publicados e enviar à coordenadora do Laboratório de Cultura de células ou à técnica responsável uma cópia do trabalho publicado;
17. O cancelamento do agendamento deve ser informado com antecedência mínima de 48 horas. O não comparecimento ou atraso superior a 15 minutos pode implicar perda do horário agendado;
18. O usuário é responsável pela preparação adequada das amostras, conforme as exigências do equipamento. Amostras fora dos padrões estabelecidos podem ser recusadas;
19. Todas as amostras devem estar devidamente identificadas e acompanhadas de informações necessárias para sua análise;



COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE INFRAESTRUTURA DE PESQUISA

NORMAS DE USO DE EQUIPAMENTO MULTIUSUÁRIO

20. O usuário deverá providenciar o preparo das amostras, material específico para manipulação e o descarte de eventuais resíduos gerados;
21. É de responsabilidade do usuário verificar previamente a compatibilidade dos anticorpos e fluorocromos com os lasers do equipamento. Em caso de dúvida, recomenda-se consulta prévia à técnica responsável antes da aquisição;
22. Poderá ser estabelecido limite de amostras por agendamento, conforme a demanda e a disponibilidade do equipamento;
23. A necessidade de acompanhamento das análises pelo usuário será definida pelos responsáveis, conforme o tipo de procedimento;
24. Embora o equipamento seja operado por técnicos especializados, os usuários, para adentrar nas dependências onde o equipamento está instalado, deverão ter conhecimento e obedecer às Normas de Segurança do Laboratório de Cultura de Células;
25. Em caso de dúvidas, poderá ser feito contato com o responsável técnico por meio do e-mail: reservappgca@gmail.com

Requisitos para as amostras:

1. As amostras deverão ser entregues previamente processadas para análise em citometria de fluxo;
2. As amostras deverão estar devidamente identificadas, acompanhadas de ficha contendo: Identificação da pesquisa, responsável pelo experimento, Tipo de amostra, Marcadores utilizados, Fluorocromos empregados, Número de eventos desejados;
3. As amostras deverão ser submetidas ao protocolo de marcação com anticorpos específicos;

As amostras sanguíneas deverão passar por lise eritrocitária utilizando solução de lise compatível com o protocolo experimental;

4. Para análises realizadas em sangue total, recomenda-se o preparo conforme protocolo padronizado do laboratório: Coleta em tubos contendo heparina, Incubação protegida da luz, Lise eritrocitária, Lavagens com PBS 1X, Fixação celular;



COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE INFRAESTRUTURA DE PESQUISA

NORMAS DE USO DE EQUIPAMENTO MULTIUSUÁRIO

5. As amostras deverão ser encaminhadas em suspensão celular homogênea, livres de agregados e partículas que possam comprometer a aquisição dos dados;
6. Recomenda-se filtração prévia em filtros de nylon de 40 a 70 µm quando houver risco de formação de agregados celulares (amostras parasitárias ou coágulos);
7. Amostras inadequadamente preparadas poderão ser recusadas.

Procedimento geral para aquisição no Attune NxT

1. É realizada configuração experimental em tubos contendo: Controles sem marcação (unstained), Controles de compensação, Amostras experimentais;
2. Os parâmetros FSC (Forward Scatter), SSC (Side Scatter) e fluorescências serão ajustados de acordo com cada ensaio;
3. A compensação espectral é realizada sempre que houver utilização simultânea de múltiplos fluorocromos;
4. A aquisição dos dados será realizada mediante software Attune NxT;
5. Os arquivos serão exportados no formato Flow Cytometry Standard (FCS) para posterior análise. O pesquisador poderá obter os dados neste mesmo formato em pendrive fornecido por ele;
8. Após o término das análises, será executado o protocolo de limpeza do equipamento utilizando soluções recomendadas pelo fabricante.

