TÍTULO TIPO: IT	UTILIZAÇÃO DO LEITOR DE MICROPLACAS VARIOSKAN™ LUX	CÓDIGO RPT10A-29 CLASSIFICAÇÃO SIGDA: 013.1

PALAVRA-CHAVE LEITOR; MICROPLACAS.	REVISÃO 00

1. OBJETIVO

Este procedimento padroniza e fixa condições adequadas para a utilização do leitor de microplacas Varioskan™ Lux da marca Thermo, visando o aumento da vida útil do mesmo.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Esta instrução contém normas para utilização do Varioskan™ Lux.

3. CONDIÇÕES GERAIS

3.1. Biossegurança

Todos os procedimentos de biossegurança devem ser obedecidos conforme GQ-28, tais como utilização de calça comprida, calçados fechados e baixos, jaleco de manga comprida e luvas, bem como a realização do transporte de material biológico descrito no GQ-41.
Os usuários só poderão utilizar o equipamento Varioskan™ Lux, após treinamento e assinatura do formulário “Registro de Treinamento” – GQ-17- ANEXO A.

3.1.2. Agendamento dos Serviços

Todas as instruções para realização da solicitação encontram-se no procedimento RPT10A-18, item 7.3 – “Condições para utilização de equipamentos”:
a) O colaborador deverá agendar o uso do equipamento, com antecedência, preenchendo a solicitação *online* no sistema da Plataforma (https://plataformas.fiocruz.br). Não será feito agendamento presencial, por telefone nem por e-mail.
b) Ao final da solicitação online será gerado número da “Solicitação” que corresponde ao “número da Fatura”, o qual deverá ser anotado no registro de utilização do leitor Varioskan™ Lux, o qual se encontra ao lado do equipamento (Anexo B), após a sua utilização.

4. INSTRUÇÕES

CÓPIA NÃO-CONTROLADA

4.1. Equipamento

Leitor de microplacas Varioskan™ Lux
Marca: Thermo Scientific™
Software: SkanIt™
Detecção: Absorvância (UV-Vis), intensidade de fluorescência (incl. FRET), luminescência (direta e filtrada), AlphaScreen/AlphaLISA e fluorescência resolvida no tempo (incl. TR-FRET/hTRF).

Figura 1: Vista Frontal do Equipamento

- O leitor de microplacas multimodo de última geração oferece até cinco tecnologias de medição, incluindo absorbância, intensidade de fluorescência, luminescência, fluorescência resolvida no tempo e Alfa. Além do excelente desempenho em todas as aplicações, ele oferece uma ampla seleção de recursos automáticos para ajudar o usuário a economizar tempo e reduzir erros comuns no laboratório.
- O leitor de microplacas Varioskan Lux é um instrumento modular e atualizável que oferece excelente usabilidade em uma variedade de aplicações.
- Até cinco tecnologias de medição: Absorvância (UV-Vis), intensidade de fluorescência (incl. FRET), luminescência (direta e filtrada), AlphaScreen/AlphaLISA e fluorescência resolvida no tempo (incl. TR-FRET/hTRF);
- Leitura óptica de filtro e monocromador;
- Varredura espectral para otimização do ensaio;

CÓPIA NÃO CONTROLADA

- Cinco modos de medição, incluindo ponto final, cinético, espectro, espectro cinético e multiponto;
- Módulo de controle de gás integrado para definir as concentrações de CO_2 e O_2 para ensaios baseados em células;
- Dispensação e medição simultâneas para monitoramento de sinal no início de uma reação;
- Seleção automática de faixa dinâmica, com base na intensidade do sinal de cada poço;
- Controles de segurança inteligentes projetados para identificar e alertar o usuário sobre possíveis problemas antes que eles aconteçam;
- Calibração automatizada de instrumentos e autodiagnóstico para desempenho confiável;
- Leitor compatível com HTRF certificado pela CisBio Bioassays;
- DLReady validado pela Promega Corporation;
- Varioskan Lux é equipado com o poderoso e intuitivo software SkanIt, proporcionando excelente usabilidade e flexibilidade.

4.2. Cuidados ao utilizar o equipamento

- Verificar se o equipamento está ligado na tomada de 220V;
- Verificar se os cabos de energia do computador e equipamentos estão devidamente ligados;
- Não abra a tampa deslizante do dispensador quando o equipamento estiver ligado a uma fonte de alimentação;
- Não abra a porta da câmara de medição manualmente quando o equipamento estiver em funcionamento (**indicador LED laranja**);
- Não force a microplaca caso a mesma não se adapte na gaveta de placas;
- Não inserir a placa com a tampa na gaveta de placas durante operação do leitor;
- Não empurre a gaveta de placas para dentro do equipamento manualmente, a menos que o equipamento esteja desligado;
- Limpeza de acordo com o procedimento RPT10A-32 - Manutenção preventiva e limpeza dos equipamentos da RPT10A.

ATENÇÃO

- Os adaptadores de placas são utilizados para adaptar placas que possuem diferentes alturas. Os adaptadores elevam as placas até a altura ideal para medição e dispensação. Antes de realizar uma medição, verifique se o adaptador de placas correto está na gaveta de placas. Verifique o adaptador com base no formato de placas que possui (96, 384...) e se permite a utilização de placas com tampa ou não.

4.3. Material

CÓPIA NÃO CONTROLADA

- Adaptadores e microplacas com exterior seco e limpo.

EM SITUAÇOES DE EMERGÊNCIA:

- Desligue o equipamento;
- Desligue o equipamento da fonte de alimentação;
- **Não desmonte o equipamento.**

4.4. Princípio da utilização

- Ligar o computador;
- Ligar o equipamento: o interruptor está localizado no painel esquerdo do equipamento;
  - Coloque o interruptor na posição ligada;
- O indicador LED na tampa dianteira do equipamento indica três estados:
  - **Verde** = aceso e pronto para o funcionamento
  - **Laranja** = em funcionamento
  - **Vermelho** = erro
  - Se não existir qualquer luz, o interruptor de alimentação está desligado ou o cabo de alimentação não foi ligado.

4.4.1. Utilização

- Após iniciar o Windows clique no software SkanIt. O Software detecta automaticamente o equipamento.

Figura 2: Software SkanIt

CÓPIA NÃO-CONTROLADA

- O equipamento realiza um conjunto de testes de inicialização e ajustes. Assim como, verificações mecânicas, elétricas e ópticas. A luz LED fica Laranja durante esta verificação. Quando o equipamento está pronto para medições, a luz LED ficará Verde e a gaveta de placas será aberta para que a placa seja colocada.

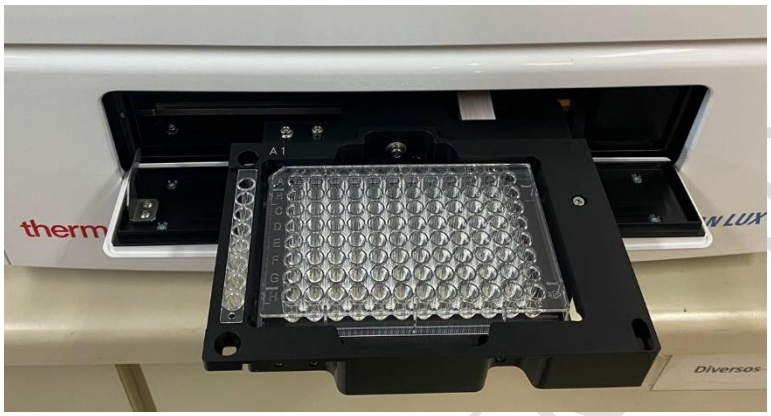

Figura 3: Gaveta de placas

- **Utilizar a placa sem tampa.**
- Os adaptadores de placas são utilizados para adaptar placas que possuem diferentes alturas, estes elevam as placas até a altura ideal para medição.
- Os adaptadores disponíveis são:

Número do Adaptador	Adaptador de Placas
2	Adaptador de placas de 96 poços sem tampa
4	Adaptador de placas de 384 poços sem tampa
80	Adaptador de placas de 6-48 poços sem tampa

CÓPIA NÃO-CONTROLADA

4.4.2. Iniciando a medição

- Em menu aplicação, clicar no botão "**Nova Sessão**":

Figura 4: Nova sessão

- No Software SkanIt clique no ícone: abrir a gaveta de placas ( ).
- Inserir a placa na gaveta de placas. Checar se a placa está devidamente encaixada SEM A TAMPA na gaveta.
- No Software SkanIt clique no ícone: fechar a gaveta de placas ( ), para iniciar a operação de leitura.

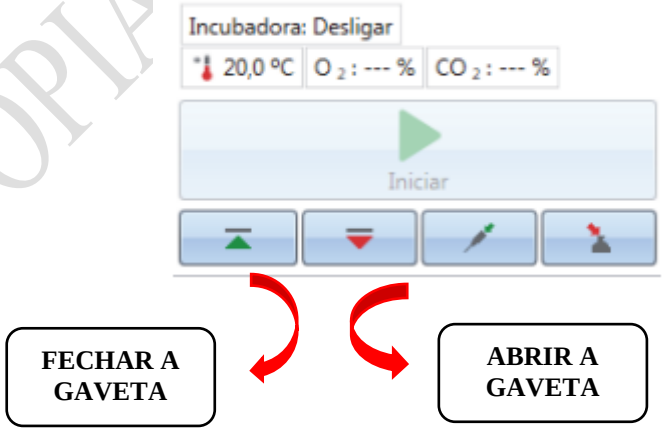

Figura 5: Menu iniciar

CÓPIA NÃO-CONTROLADA

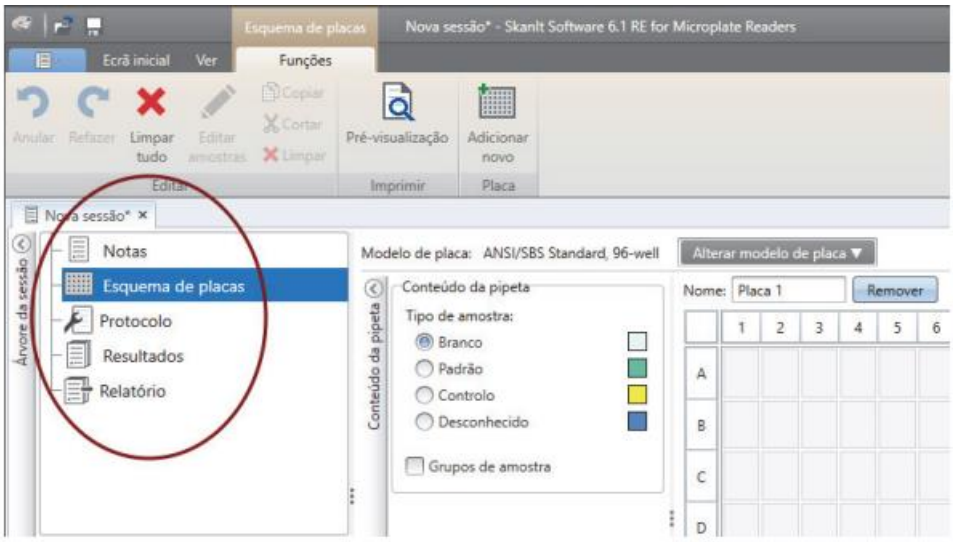

Figura 6: Esquema de placa

- Clicar em "**Esquema de placas**"
- Esquema de placa:
- Selecione *o "**Modelo** **de placa**".*
- Selecione o "***Tipo de amostra* e propriedades da amostra"**
- Deverá ser informado ao software SkanIt quais os poços serão medidos (ou dispensados) e o tipo de amostras existentes na microplaca.
- A seção "Conteúdo da pipeta" é onde define as propriedades das amostras. Aparecerá o ícone de *"Pipeta virtual"* que permitirá adicionar as amostras à placa.

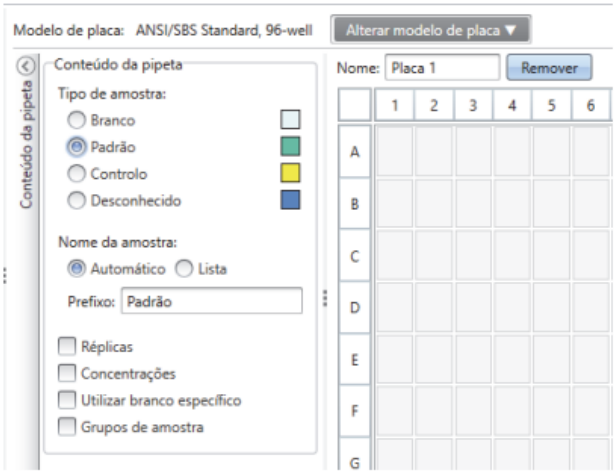

Figura 7: Modelo de placas

CÓPIA NÃO CONTROLADA

4.4.3. Definir as amostras na placa

- Selecione os poços da placa usando “Pipeta virtual” (com o seu cursor) para adicionar as amostras.
- Ao marcar quantas “**Réplicas**”, também há opções de selecionar em quantas colunas e linhas onde as amostras encontram-se repetidas.
- Ao marcar “**Concentrações**”, a opção Série corresponde às diluições em série do padrão, basta colocar a primeira concentração diluída e unidade utilizada. Semelhante a opção Controle e Desconhecido (amostra).
- Ao marcar “**Valores**”, aparecerá um campo para anotações das concentrações e unidade utilizada. Semelhante para a opção Controle e Desconhecido (Amostra).

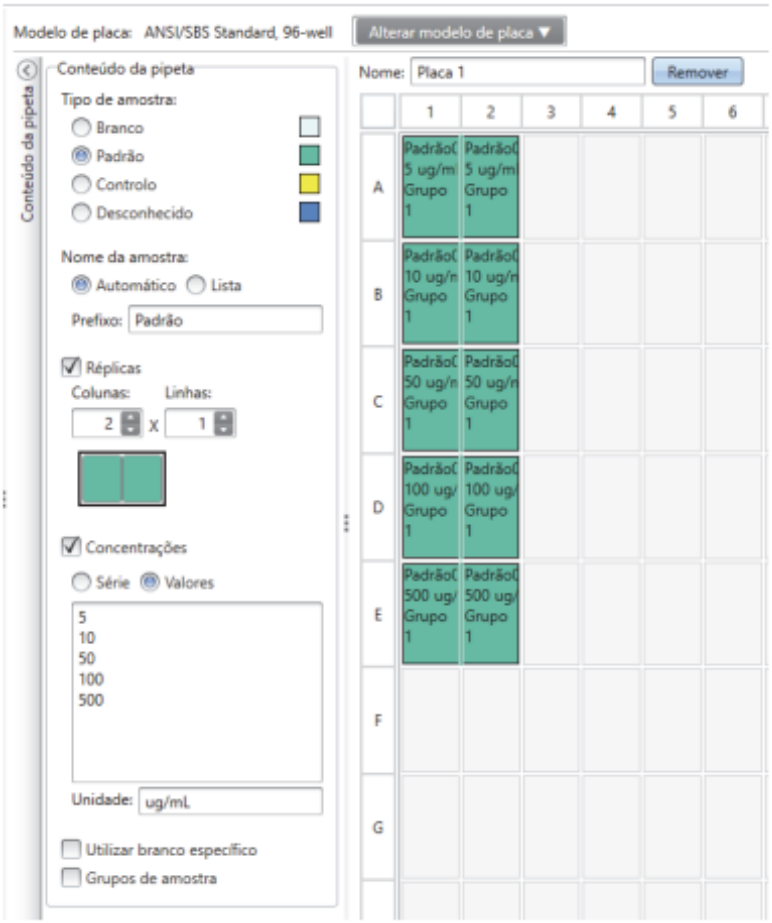

Figura 8: Para adicionar uma série de amostras padrão (concentrações de 5, 10, 50, 100 e 500 µg/ml), com duas réplicas lado a lado, selecione os parâmetros do conteúdo da pipeta, tal como mostrado abaixo, e adicione as amostras à placa, pintando os poços com a pipeta virtual

4.4.4. Definir o protocolo para a placa

- Clique em Protocolo na Árvore da sessão.
- Selecione a ação a partir do item “Protocolo”. A ação aparece na Árvore da seção.
- Defina os parâmetros: Comprimento de onda da medição, dentre outros.
- Para alterar a ordem do protocolo, clique na ação que pretende mover depois na pequena ponta de seta para deslocar para cima ou para baixo.

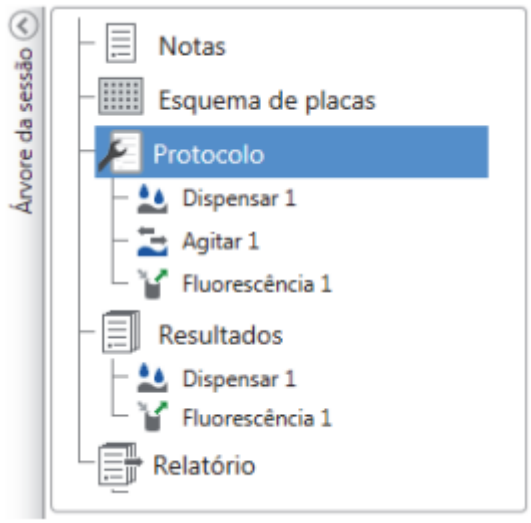

Figura 9. Para mover a ação para cima ou para baixo, clique no ícone da ponta de seta. Para remover a ação, clique na marca X.

- O software detecta automaticamente a configuração do instrumento e apresenta apenas as ações que se encontram disponíveis.

Figura 10: O friso Protocolo para adicionar ações

4.4.5. Iniciar uma medição

- No Software clique no ícone: fechar a gaveta de placas ( ) , para iniciar a operação.

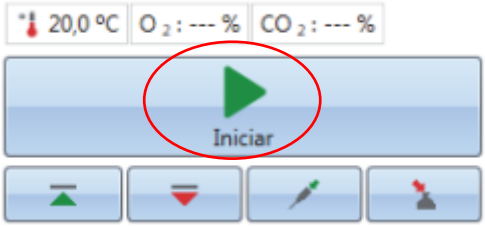

Figura 11: O botão Iniciar

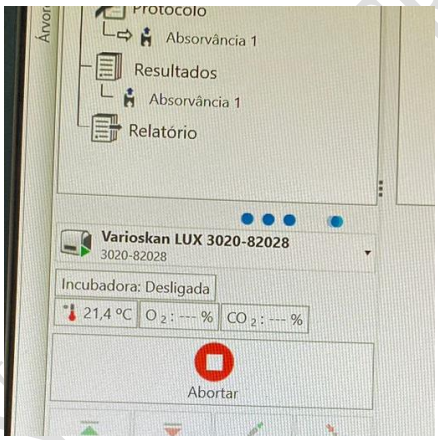

Figura 12: Imagem acima se refere ao símbolo que aparece na tela indicando que o aparelho está realizando a leitura.

4.4.6. Resultados

- Clique na aba “Resultados “para exportar os dados para a planilha de excel.
- Clique na aba “placa” ou “Lista” para visualizar os resultados.

CÓPIA NÃO CONTROLADA

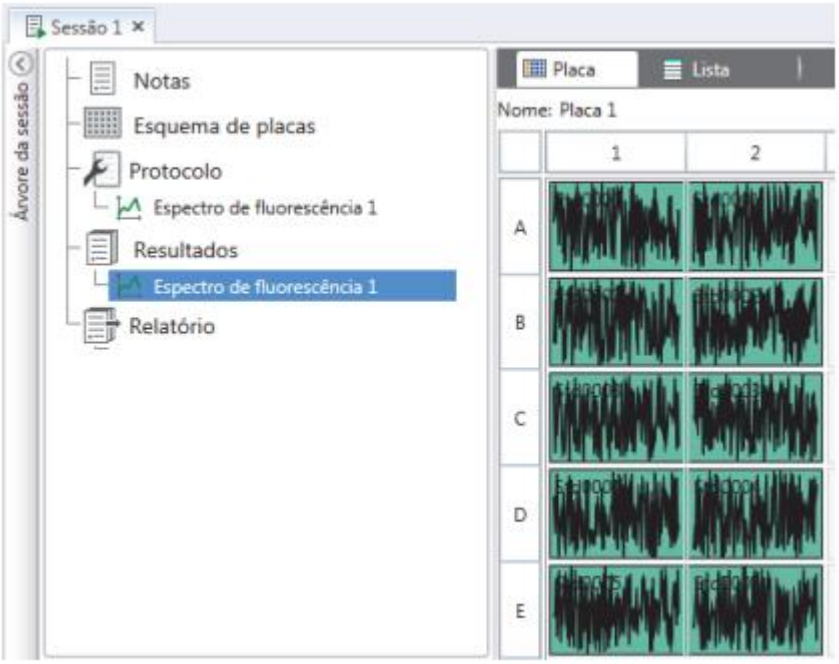

Figura 13. Os resultados da medição do espectro fluorométrico com a vista Placa aberta.

4.4.6.1 Ações dos cálculos:

Figura 14: O friso Resultados para adicionar ações

- É possível realizar cálculos diretos no software, como na tabela abaixo:

Acção	Descrição
Subtracção do branco	Subtrai o valor médio do branco de todas as amostras.
Média, SD, CV%	Calcula a média, o desvio padrão (SD) e o coeficiente de variação (CV%) das réplicas de amostras.
Cálculo básico	Executa cálculos simples, tais como subtracções, multiplicações e divisões.
Factor de diluição	Multiplica os resultados das amostras desconhecidas, através de factores de diluição definidos no esquema da placa.

Figura 15: Ações e descrições de cálculos

- Enviar os arquivos contendo os dados brutos por e-mail, assim que terminar as leituras. Por questões de segurança, nunca utilizar pendrive ou CD para salvar qualquer tipo de arquivo. Os arquivos salvos no computador serão apagados mensalmente.
- Fechar o programa, desligar o equipamento e em seguida desligar o computador.
- Em qualquer eventualidade, o técnico deverá ser comunicado, para que as devidas providências sejam tomadas.
- Não alterar nenhuma configuração do equipamento sem comunicação prévia com o técnico responsável.
- O Varioskan Lux está disponível com diferentes recursos. Todos os recursos disponíveis estão descritos no manual do equipamento.
- O manual de operação do Varioskan Lux consiste em instruções de hardware e instruções de software.

5. ANEXOS

CÓPIA NÃO-CONTROLADA

_____
/ANEXO A

ANEXO A

CONTROLE DE UTILIZAÇÃO DO EQUIPAMENTO VARIOSKANLUX

Instituto René Rachou FIOCRUZ MINAS

Controle de utilização do equipamento VarioskanLux

Identificação		Grupo de Pesquisa (Ramal)	Material		Quantidade	Data	Horário	
Usuário	Número da Fatura		Placa	Injetor			Início	Término

RPT10A-29 Anexo A Rev00

CÓPIA NÃO