



Notice d'utilisation pour la

Gamme de lecteurs Infinite 200 PRO

Infinite M Nano

Infinite Lumi

Infinite M Nano+

Infinite M Plex

Infinite F Nano+

Infinite F Plex



Document n° : 30160738

2021-06

N° de révision de document : 1.4



30160738 02



AVERTISSEMENT
LISEZ SOIGNEUSEMENT ET SUIVEZ LA NOTICE D'UTILISATION
AVANT D'UTILISER L'INSTRUMENT.

Remarque

Tous les efforts ont été fournis afin d'éviter que des erreurs ne figurent dans le texte et les schémas ; cependant, Tecan Austria GmbH décline toute responsabilité en cas d'erreurs éventuelles présentes dans cette publication.

La politique de Tecan Austria GmbH est de perfectionner les produits à mesure que de nouvelles techniques et de nouveaux composants arrivent sur le marché. Tecan Austria GmbH se réserve le droit de modifier ses spécifications à tout moment, après les vérifications, validations et approbations appropriées.

Tout commentaire sur cette publication sera le bienvenu.

**Fabricant**

Tecan Austria GmbH
Untersbergstr. 1A
A-5082 Grödig, Autriche
T +43 62 46 89 33
F +43 62 46 72 770
E-mail : office.austria@tecan.com
www.tecan.com

Informations sur le copyright

Le contenu de ce document est la propriété de Tecan Austria GmbH. Toute copie, reproduction ou cession à des tiers est interdite sans autorisation écrite préalable.

Copyright © Tecan Austria GmbH
Tous droits réservés.
Imprimé en Autriche

Déclaration pour certification UE

Voir la dernière page de la présente notice d'utilisation.

À propos de cette notice d'utilisation

Notice originale. Ce document décrit les lecteurs de microplaques multifonction de la gamme de lecteurs Infinite 200 PRO. Il doit servir de référence et de notice d'utilisation. Ce document explique comment :

- Installer l'instrument
- Faire fonctionner l'instrument
- Nettoyer et entretenir l'instrument

Remarques sur les captures d'écran

Le numéro de version affiché dans les captures d'écran peut ne pas correspondre à celui de la version actuellement publiée. Les captures d'écran ne sont remplacées que si le contenu relatif à l'application a changé.

Marques de commerce

Les noms de produits suivants et toutes les marques déposées et non déposées mentionnées dans ce document ne sont utilisés qu'à des fins d'identification et restent la propriété exclusive de leurs détenteurs respectifs :

- Infinite®, i-control™, magellan™, NanoQuant Plate™, Tecan® et le logo Tecan sont des marques déposées de Tecan Group Ltd., Männedorf, Suisse
- Windows® et Excel® sont des marques déposées de Microsoft Corporation, Redmond, WA, États-Unis
- Chroma-Glo™ Dual-Luciferase®, Enliten® et NanoBRET™ sont des marques déposées de Promega Corporation Madison, WI, États-Unis
- Starna® est une marque déposée de Starna Scientific Limited, 52-54 Fowler Road, Hainault, Essex IG6 3UT Angleterre, Royaume-Uni
- BRET2™, DeepBlueC® et PerkinElmer® sont des marques déposées de PerkinElmer, Inc., Waltham, Massachusetts, États-Unis

Avertissements, précautions et notes

Les types de signalisation suivants sont utilisés dans cette publication pour mettre en valeur d'importantes informations ou avertir l'utilisateur d'une situation potentiellement dangereuse :



Note
Fournit une information utile.



PRECAUTION
INDIQUE LE RISQUE D'ENDOMMAGER L'INSTRUMENT OU DE PERDRE DES DONNEES SI LES INSTRUCTIONS NE SONT PAS SUIVIES.



AVERTISSEMENT
INDIQUE LA POSSIBILITE DE DOMMAGES CORPORELS, DANGER DE MORT OU DETERIORATION DU MATERIEL SI LES INSTRUCTIONS NE SONT PAS SUIVIES.



AVERTISSEMENT
CE SYMBOLE INDIQUE LA PRESENCE POSSIBLE DE SUBSTANCES BIOLOGIQUES DANGEREUSES. DES PRECAUTIONS DE SECURITE DE LABORATOIRE ADAPTEES DOIVENT ETRE SUIVIES.



AVERTISSEMENT
CE SYMBOLE INDIQUE LA PRESENCE POSSIBLE DE MATERIAUX INFLAMMABLES ET LE RISQUE D'UN INCENDIE. DES PRECAUTIONS DE SECURITE DE LABORATOIRE ADAPTEES DOIVENT ETRE SUIVIES.



ATTENTION

EFFETS NÉGATIFS SUR L'ENVIRONNEMENT ASSOCIÉS AU TRAITEMENT DES DÉCHETS.

- **NE PAS TRAITER LES ÉQUIPMENTS ÉLECTRIQUES ET ÉLECTRONIQUES EN TANT QUE DÉCHETS MUNICIPAUX NON TIRÉS.**
- **COLLECTER SÉPARÉMENT LES DÉCHETS D'ÉQUIPMENTS ÉLECTRIQUES ET ÉLECTRONIQUES.**



POUR LES HABITANTS DE LA CALIFORNIE UNIQUEMENT :

AVERTISSEMENT

AVEC CE PRODUIT, VOUS RISQUEZ D'ÊTRE EXPOSÉ À DES SUBSTANCES CHIMIQUES TELLES QUE LE PLOMB, RECONNU DANS L'ÉTAT DE CALIFORNIE COMME CANCÉROGÈNE ET À L'ORIGINE DE MALFORMATIONS CONGÉNITALES OU D'AUTRES TROUBLES DE LA REPRODUCTION. POUR PLUS D'INFORMATIONS, CONSULTEZ LE SITE :

WWW.P65WARNINGS.CA.GOV/PRODUCT.

Symboles











	Fabricant
	Date de fabrication
	Marquage CE de conformité
	United Kingdom Conformity Assessed Le marquage UKCA indique que le produit est conforme aux réglementations de la Grande-Bretagne.
	Consulter la notice d'utilisation
	Numéro de catalogue
	Numéro de série
	Unique Device Identification Le symbole UDI identifie le support de données sur l'étiquette.
	Symbole USB
	Symbole WEEE
	Symbole China RoHS
	TÜV SÜD MARK

Table des matières

1.	Sécurité	9
1.1	Sécurité de l'instrument.....	9
2.	Description générale	11
2.1	Instrument	11
2.1.1	Usage prévu	11
2.1.2	Multifonctionnalité.....	12
2.1.3	Volumes de remplissage	12
2.1.4	Performances	13
2.1.5	Convivialité d'utilisation	13
2.1.6	Bouton de commande intégré	13
2.1.7	Vue arrière.....	14
2.2	Logiciel	15
2.3	Injecteurs (en option)	15
2.3.1	Modes de mesure d'injecteur.....	15
2.3.2	Schéma du module d'injecteur	16
2.3.3	Options de la pompe d'injection.....	16
2.3.4	Flacons de stockage et porte-flacons.....	16
2.3.5	Porte-injecteur	17
2.4	Techniques de mesure.....	19
2.4.1	Fluorescence.....	19
2.4.2	Absorbance	21
2.4.3	Luminescence	21
2.5	Système optique	23
2.5.1	Système d'intensité de fluorescence (configurations M de l'Infinite).....	23
2.5.2	Système d'intensité de fluorescence (configurations F de l'Infinite)	29
2.5.3	Système de polarisation de fluorescence (Infinite F Plex uniquement)	32
2.5.4	Système d'absorbance (configurations F de l'Infinite)	33
2.5.5	Système d'absorbance (configurations M de l'Infinite).....	34
2.5.6	Système de luminescence.....	37
2.5.7	Port de cuvette (configurations M de l'Infinite).....	39
3.	Installation.....	43
3.1	Déballage et inspection	43
3.1.1	Procédure de déballage	43
3.2	Retrait des verrouillages de transport	45
3.3	Transport et stockage	46
3.3.1	Transport	46
3.3.2	Stockage	46
3.4	Caractéristiques d'alimentation nécessaires.....	46
3.5	Mise sous tension de l'instrument	47
4.	Utilisation de l'instrument	49
4.1	Introduction.....	49
4.2	Fonctionnalités générales	50
4.2.1	Démarrage de l'instrument	50
4.3	Options générales	50
4.4	Définition des porte-filtres (configurations F de l'Infinite).....	52
4.4.1	À propos des filtres.....	52
4.4.2	Porte-filtres et orientation du filtre.....	52
4.4.3	Installation d'un filtre personnalisé.....	54

4.4.4	Définition des filtres	56
4.5	Optimisation des mesures de fluorescence	60
4.5.1	Paramètres de l'instrument	60
4.5.2	Optimisation Z (Mesures de FI du haut avec uniquement des configurations M de l'Infinite)	61
4.5.3	Mode rapport de FI	65
4.6	Mesures FP	67
4.6.1	Polarisation de fluorescence	67
4.6.2	Gamme du blanc de la mesure	67
4.6.3	Paramètres du facteur G	67
4.6.4	Mesure avec un facteur G non calibré	68
4.6.5	Mesure avec un calibrage simultané du facteur G	68
4.6.6	Mesure avec un facteur G calibré	69
4.6.7	Mesure avec un facteur G manuel	70
4.6.8	Calcul des paramètres de polarisation de fluorescence	71
4.7	Optimisation des mesures d'absorbance	72
4.7.1	Paramètres de mesure	72
4.7.2	Mode rapport d'absorbance	72
4.8	Lectures multiples par puits	73
4.8.1	Type MRW	73
4.8.2	Taille MRW	74
4.8.3	Bordure MRW	75
4.8.4	Affichage des résultats dans MS Excel	76
4.8.5	Diverses fonctions logicielles de MRW	76
4.9	Optimisation des mesures de luminescence	77
4.9.1	Temps d'intégration	77
4.9.2	Atténuation du niveau de luminosité	77
4.10	Mesures avec injecteurs	78
4.10.1	Amorçage et lavage du lecteur Infinite	78
4.10.2	Lavage	83
4.10.3	Avant de démarrer une mesure avec des injecteurs	87
4.10.4	Modes avec injecteur (i-control)	87
4.11	Mesures de blanc	92
4.12	Mesures de cuvette	93
4.12.1	Bande de cuvette	93
4.12.2	Mouvements de la cuvette	93
4.12.3	Exemples de cuvette avec i-control	93
4.13	Exemples i-control	98
4.14	Terminer une session de mesure	102
4.14.1	Déconnexion de l'instrument	102
4.14.2	Arrêt de l'instrument	102
5.	Fonctionnalités de l'instrument	103
5.1	Introduction	103
5.2	Spécifications de l'instrument	104
5.3	Intensité de fluorescence et fluorescence résolue en temps (TRF)	106
5.3.1	Définition de la limite de détection	106
5.3.2	Fluorescéine (Intensité de fluorescence) Haut	106
5.3.3	Fluorescéine (Intensité de fluorescence) Fond	107
5.3.4	Europium (Fluorescence résolue en temps)	107
5.4	Polarisation de fluorescence (FP) – Infinite F Plex uniquement	108
5.5	Absorbance	109
5.6	Luminescence Glow	110
5.6.1	Luminescence Glow ATP	110

5.7	Luminescence Flash	111
5.8	Luminescence couleur dual (par exemple BRET)	112
5.9	Mesures « sur le champ »	112
5.10	Fonctionnalités de cuvette (configurations M de l'Infinite uniquement)	113
5.10.1	Spécifications de la cuvette	113
5.11	Spécifications de l'injecteur	114
5.11.1	Compatibilité avec les réactifs de l'injecteur	114
5.12	Accessoires de mesure	115
5.12.1	Filtres recommandés (configurations F de l'Infinite uniquement).....	115
5.12.2	Types recommandés de microplaques.....	116
5.12.3	Détection de la luminescence.....	120
6.	Contrôle qualité	121
6.1	Tests périodiques de contrôle qualité	121
6.2	Spécifications - Critères d'acceptation/échec	122
6.3	Spécifications - Instructions de test.....	123
6.3.1	Fluorescence du haut	123
6.3.2	Fluorescence du fond.....	127
6.3.3	Fluorescence résolue en temps	130
6.3.4	Polarisation de fluorescence (Infinite F Plex uniquement).....	132
6.3.5	Luminescence Glow	134
6.3.6	Exactitude de l'absorbance.....	135
6.3.7	Exactitude de la longueur d'onde d'absorbance	135
6.3.8	Planéité de base de l'absorbance (configurations M de l'Infinite)	136
6.3.9	Planéité de base de l'absorbance (configurations F de l'Infinite).....	136
6.3.10	Absorbance dans la cuvette (configurations M de l'Infinite uniquement).....	137
7.	Nettoyage et maintenance.....	139
7.1	Introduction.....	139
7.2	Éclaboussures de liquide	140
7.3	Nettoyage et maintenance de l'injecteur	141
7.3.1	Maintenance quotidienne	141
7.3.2	Maintenance hebdomadaire/périodique	141
7.4	Désinfection de l'instrument	143
7.4.1	Solutions de désinfection.....	143
7.4.2	Procédure de désinfection.....	143
7.4.3	Certificat de sécurité.....	144
7.4.4	Élimination.....	144
7.4.5	Élimination du matériel d'emballage	145
7.4.6	Élimination du matériel de fonctionnement.....	145
7.4.7	Élimination de l'instrument.....	145
8.	Dépannage	147
	Index	151
	Service client Tecan	153

1. Sécurité

1.1 Sécurité de l'instrument

1. Toujours respecter les précautions de sécurité de base lors de l'utilisation de ce produit, afin de réduire les risques de blessure, d'incendie ou de choc électrique.
2. Vous devez lire et comprendre toutes les informations contenues dans la notice d'utilisation. Ne pas lire, comprendre et respecter les instructions contenues dans ce document peut endommager le produit, causer des blessures au personnel d'exploitation, ou limiter les performances de l'instrument.
3. Respecter tous les avertissements intitulés AVERTISSEMENT et PRÉCAUTION de ce document.
4. Ne jamais ouvrir le boîtier de l'Infinite 200 PRO lorsqu'il est raccordé au secteur.
5. Ne jamais forcer sur une microplaque lors de son insertion dans l'instrument.
6. L'Infinite 200 PRO est un appareil de laboratoire à usage général prévu pour une utilisation professionnelle. Respecter les mesures de sécurité adaptées du laboratoire, telles que le port de vêtements de protection, et appliquer les procédures de sécurité approuvées du laboratoire.

PRECAUTION

TECAN AUSTRIA GMBH A PRIS LE PLUS GRAND SOIN A CREER LES FICHIERS DE DEFINITION DE PLAQUE FOURNIS AVEC LE LOGICIEL DE L'INSTRUMENT.

NOUS AVONS PRIS TOUTES LES PRECAUTIONS POUR GARANTIR QUE LES HAUTEURS DE PLAQUE ET LES PROFONDEURS DE Puits SOIENT CORRECTES ET CORRESPONDENT AU TYPE DE PLAQUE DEFINI. CE PARAMETRE EST UTILISE POUR DETERMINER LA DISTANCE MINIMUM ENTRE LE HAUT DE LA PLAQUE ET LE PLAFOND DE LA CHAMBRE DE MESURE. DE PLUS, TECAN AUSTRIA A AJOUTÉ DE TRÈS FAIBLES TOLÉRANCES DE SÉCURITÉ AFIN D'EMPÊCHER TOUT ENDOMMAGEMENT DE LA CHAMBRE DE MESURE SUITE À DE LÉGÈRES VARIATIONS DE LA HAUTEUR DES PLAQUES DUES AUX CHARGES. CECI N'A AUCUN IMPACT SUR LES PERFORMANCES DE L'INSTRUMENT.

LES UTILISATEURS DOIVENT S'ASSURER QUE LE FICHIER DE DEFINITION DE PLAQUE SELECTIONNE CORRESPOND A LA PLAQUE ACTUELLEMENT UTILISEE.

LES UTILISATEURS DOIVENT EGALEMENT VEILLER A L'ABSENCE DE CONTAMINATION FLUORESCENTE OU LUMINESCENTE POTENTIELLE SUR LE HAUT DE LA PLAQUE. ILS DOIVENT EGALEMENT NOTER QUE CERTAINS SCCELLANTS DE PLAQUE LAISSENT UN RESIDU COLLANT QUI DOIT ETRE COMPLETEMENT RETIRE AVANT LA MESURE.



PRECAUTION

AVANT DE COMMENCER LES MESURES, S'ASSURER QUE LA POSITION A1 DE LA MICROPLAQUE EST INSEREE CORRECTEMENT. LE Puits A1 DE LA PLAQUE DOIT SE TROUVER EN HAUT A GAUCHE.



**PRECAUTION**

**POUR GARANTIR UN FONCTIONNEMENT OPTIMAL DES INSTRUMENTS
TECAN,
NOUS RECOMMANDONS UN INTERVALLE DE MAINTENANCE DE 6 MOIS.**

On suppose que grâce à leur expérience professionnelle, les opérateurs de l'instrument sont familiarisés avec les précautions de sécurité nécessaires à la manipulation de produits chimiques et biologiques dangereux.

Respectez les législations et règles suivantes :

1. Législation nationale sur la sécurité industrielle
2. Régulations de prévention des accidents
3. Fiches de données de sécurité des fabricants de réactifs

**AVERTISSEMENT**

**SELON LES APPLICATIONS, CERTAINES PARTIES DE L'INSTRUMENT
PEUVENT ENTRER EN CONTACT AVEC DES PRODUITS PRESENTANT UN
RISQUE BIOLOGIQUE OU INFECTIEUX. ASSUREZ-VOUS QUE SEUL LE
PERSONNEL QUALIFIE UTILISE L'INSTRUMENT. SI L'INSTRUMENT DOIT
ETRE REPARÉ, DÉPLACÉ OU ÉLIMINÉ, VEILLEZ À TOUJOURS
DESINFECTER L'INSTRUMENT EN SUIVANT LES INSTRUCTIONS
DONNÉES DANS CE MANUEL.**

2. Description générale

2.1 Instrument

Le Tecan Infinite 200 PRO est un lecteur de microplaques multifonction conçu pour l'entrée de gamme du marché des sciences du vivant. L'Infinite 200 PRO fournit d'excellentes performances pour la grande majorité des applications de microplaques et la recherche actuelles ; il est compatible avec la robotique.

La conception du lecteur Infinite 200 PRO est basée sur le concept technologique du lecteur Infinite renommé ; six configurations sont disponibles au sein de la gamme de lecteurs Infinite 200. Les six configurations, les fonctions ainsi que les options respectives sont récapitulées ci-dessous :

Fonctions	Configurations avec monochromateur (M)				Configurations avec filtre (F)	
	M Nano	M Nano+	Lumi	M Plex	F Nano+	F Plex
Absorbance - monochromateur	x	x		x		
Absorbance - filtre					x	x
Fluorescence - monochromateur		x		x		
Fluorescence - filtre					x	x
Fluorescence - lecture du haut		x		x	x	x
Fluorescence - lecture du fond		x		x	x	x
Fluorescence-polarisation - filtre						x
Luminescence			x	x		x
Options						
1 injecteur	x	x	x	x	x	x
2 injecteurs	x	x	x	x	x	x
Cuvette	x	x		x		
Plaque NanoQuant Plate	x	x		x	x	x

2.1.1 Usage prévu

L'Infinite 200 PRO est un appareil de laboratoire à usage général prévu pour une utilisation professionnelle. Il prend en charge des microplaques courantes de 6 à 384 puits conformes aux normes ANSI/SBS (voir 5.12.2 Types recommandés de microplaques pour plus de détails).



Note

Une validation du système par l'autorité exploitante est obligatoire. L'Infinite 200 PRO n'a été validé que pour un ensemble choisi d'essais. Il est de la responsabilité de l'autorité exploitante de s'assurer que l'Infinite 200 PRO a été agréé pour chaque essai spécifique effectué avec l'instrument.

2.1.2 Multifonctionnalité

Les techniques de mesure suivantes sont prises en charge par le lecteur Infinite, selon la configuration du lecteur sélectionnée :

- Intensité de fluorescence (FI) du haut
- Intensité de fluorescence (FI) du fond
- Fluorescence résolue en temps (TRF)
- Transfert d'énergie de fluorescence par résonance (FRET)
- Fluorescence Flash (avec injecteurs)
- Polarisation de fluorescence (FP)
- Absorbance
- Absorbance (avec injecteurs)
- Absorbance dans les cuvettes
- Luminescence Glow
- Luminescence Flash
- Transfert d'énergie de bioluminescence par résonance (BRET)

Toute microplaque courante dont le format est compris entre 6 et 384 puits et conforme aux normes ANSI/SBS (ANSI/SBS 1-2004 ; ANSI/SBS 2-2004, ANSI/SBS 3-2004 et ANSI/SBS 4-2004) peut être mesurée avec l'une des techniques de mesure ci-dessus. Le basculement entre les techniques de mesure ou les formats de plaques est entièrement automatisé au moyen d'un logiciel. Il n'est pas nécessaire de reconfigurer manuellement les optiques afin de basculer entre les modes de lecture pris en charge par le lecteur Infinite.

2.1.3 Volumes de remplissage



PRECAUTION

LES MICROPLAQUES SUIVANTES PEUVENT ETRE TRAITÉES UNIQUEMENT AVEC LES VOLUMES DE REMPLISSAGE SUIVANTS :

- PLAQUES A 6 PUIITS <= 2 000 µL
- PLAQUES A 12 PUIITS <= 1 200 µL
- PLAQUES A 24 PUIITS <= 1 000 µL
- PLAQUES A 48 PUIITS <= 400 µL
- PLAQUES A 96 PUIITS <= 200 µL
- PLAQUES A 384 PUIITS <= 100 µL

DES VOLUMES DE REMPLISSAGE PLUS IMPORTANTS PEUVENT PROVOQUER UN DEBORDEMENT DES LIQUIDES, CE QUI PEUT ENTRAÎNER UNE CONTAMINATION CROISÉE. DE PLUS, UN DEBORDEMENT PEUT ENDOMMAGER L'INSTRUMENT (PAR EX. CONTAMINATION DE L'OPTIQUE ET DE LA PINCE DE CENTRAGE).

SI LE VOLUME DE TRAVAIL DANS LE FICHER DE DEFINITION DE PLAQUE (PDFX) EST INFÉRIEUR AUX VOLUMES INDICÉS CI-DESSUS, LES VOLUMES DE REMPLISSAGE PLUS FAIBLES DOIVENT ÊTRE UTILISÉS POUR ÉVITER DES ECLABOUSSURES (PAR EX. LES PLAQUES A 384 PUIITS CORNING PRÉSENTENT UN VOLUME DE TRAVAIL DE SEULEMENT 80 µL).

POUR LES LIQUIDES PRÉSENTANT UNE VISCOSITÉ INFÉRIEURE À CELLE DES SOLUTIONS AQUEUSES, LE VOLUME DE REMPLISSAGE DOIT ÉGALEMENT ÊTRE OPTIMISÉ PENDANT LA VALIDATION DE LA MÉTHODE.

2.1.4 Performances

Le lecteur Infinite a été conçu pour satisfaire aux exigences d'un appareil de laboratoire à usage général.

Le lecteur Infinite fournit un ensemble de paramètres permettant d'optimiser les résultats de mesure selon : la configuration spécifique, le type d'essai (cellulaire ou homogène), le type de microplaque, les volumes distribués par puits ainsi que les vitesses de distribution.

2.1.5 Convivialité d'utilisation

Les lecteurs Infinite disposant de configurations avec monochromateur offrent une flexibilité inégalée dans la sélection de la longueur d'onde pour les mesures de l'intensité de fluorescence et d'absorbance. Le logiciel permet de régler facilement la longueur d'onde dans la gamme de longueur d'onde spécifiée. En plus des mesures de longueur d'onde simple, il est possible d'enregistrer les spectres d'absorbance et de fluorescence. Lors de l'exécution d'un spectre, il n'existe aucune restriction due aux filtres de seuil.

Les lecteurs Infinite disposant de configurations avec filtre offrent une grande flexibilité pour la personnalisation des mesures de fluorescence et d'absorbance ; les porte-filtres contenant des filtres d'interférence de fluorescence et d'absorbance sont facilement accessibles à l'utilisateur.



Note

Si les instructions fournies dans ce document ne sont pas correctement suivies, l'instrument peut être endommagé ou les procédures ne seront pas correctement accomplies ; dès lors, la sécurité de l'instrument n'est pas garantie.

2.1.6 Bouton de commande intégré

Le lecteur Infinite dispose d'un bouton de commande intégrée permettant de contrôler les mouvements de la plaque sans devoir se connecter au logiciel. Si vous appuyez sur le bouton **Plate In/Out** (Entrer/sortir plaque), la position effective du porte-plaque est automatiquement reconnue et la plaque est rentrée dans l'instrument ou sortie de l'instrument.

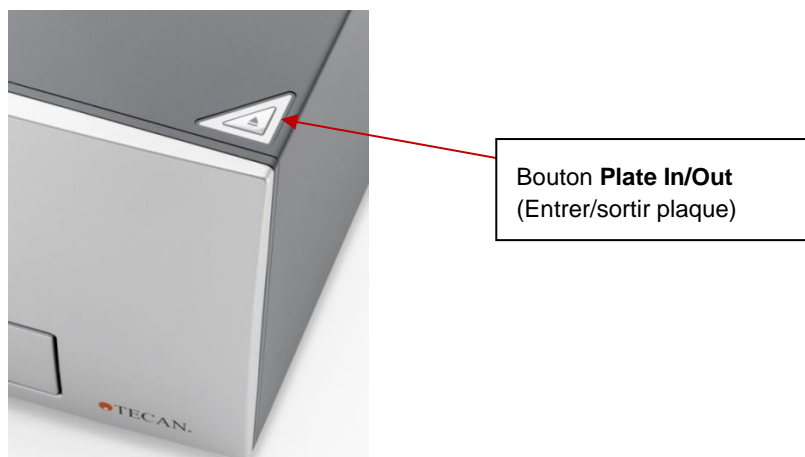


Figure 1 : Bouton intégré du lecteur Infinite. Le bouton **Plate In/Out** (Entrer/sortir plaque) se trouve dans le coin avant droit du couvercle supérieur.

2.1.7 Vue arrière

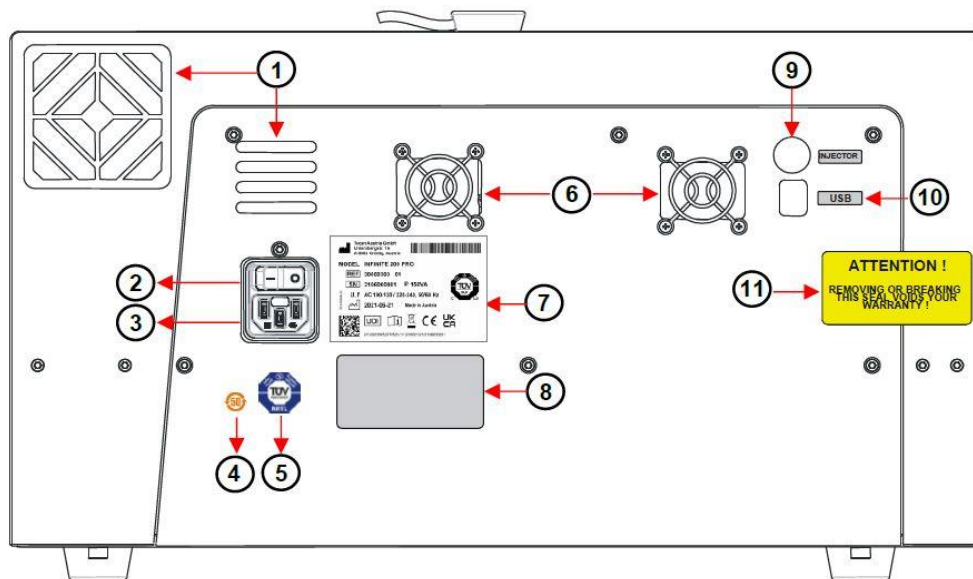


Figure 2 : Panneau arrière

1	Ventilateur de l'instrument	
2	Interrupteur principal	
3	Prise secteur	
4	Étiquette – Symbole China RoHS	
5	Étiquette – Agence d'inspection technique (TÜV)	
6	Ventilateur de l'alimentation secteur	
7	Plaque signalétique	
8	Étiquette – Options/Configuration	
9	Connexion de l'injecteur	
10	Port USB	
11	Étiquette de garantie	<p>ATTENTION LE FAIT DE RETIRER OU DE BRISER CE SCELLEMENT ANNULE VOTRE GARANTIE !</p>



PRECAUTION

**SEULS DES TECHNICIENS DE MAINTENANCE TECAN AGREES SONT
AUTORISES A OUVRIR L'INSTRUMENT. LE RETRAIT OU LA RUPTURE DU
CACHET DE GARANTIE ANNULE LA GARANTIE.**

2.2 Logiciel

Le lecteur Infinite est fourni avec le logiciel **i-control** permettant d'utiliser l'instrument, qui comprend un fichier d'aide et une notice d'utilisation imprimée. Le logiciel est formaté sous forme d'archive auto-extractible sur le support de stockage du logiciel. (Pour des informations sur la configuration système, veuillez consulter la notice d'utilisation du logiciel **i-control**. La notice d'utilisation du logiciel **i-control** se trouve sur le support de stockage du logiciel.)

Pour une réduction améliorée des données, le logiciel **Magellan** peut être utilisé pour commander le lecteur Infinite. Magellan dispose de toutes les fonctions satisfaisant la directive 21 CFR partie 11 de la FDA qui fournit des enregistrements et des signatures électroniques (pour plus d'informations, contactez votre représentant Tecan local).

2.3 Injecteurs (en option)

Le lecteur Infinite peut être équipé en option d'un module d'injecteur composé d'une ou de deux pompes à seringue (XE-1000, Tecan Systems) se trouvant dans un boîtier séparé, qui alimentent une ou deux aiguilles d'injecteur.

Les aiguilles d'injecteur sont conçues pour injecter du liquide dans une microplaque à puits conforme SBS, dans laquelle la taille de puits est égale ou supérieure à une microplaque à 384 puits SBS standard.



Figure 3 : Boîte de l'injecteur avec porte-flacons

2.3.1 Modes de mesure d'injecteur

Les injecteurs du lecteur Infinite peuvent être utilisés avec les modes de mesure suivants :

- Intensité de fluorescence du haut et du fond
- Fluorescence résolue en temps
- Absorbance
- Luminescence Flash
- Luminescence Glow
- Luminescence couleur dual

Comme la position de mesure et la position de l'injecteur ne sont pas identiques, un court délai (d'env. < 0,5 s) est présent entre l'injection et la lecture.

Pour plus de détails sur la façon de configurer une mesure avec des injecteurs, veuillez vous reporter au chapitre 4.10.4 Modes avec injecteur (i-control).

2.3.2 Schéma du module d'injecteur

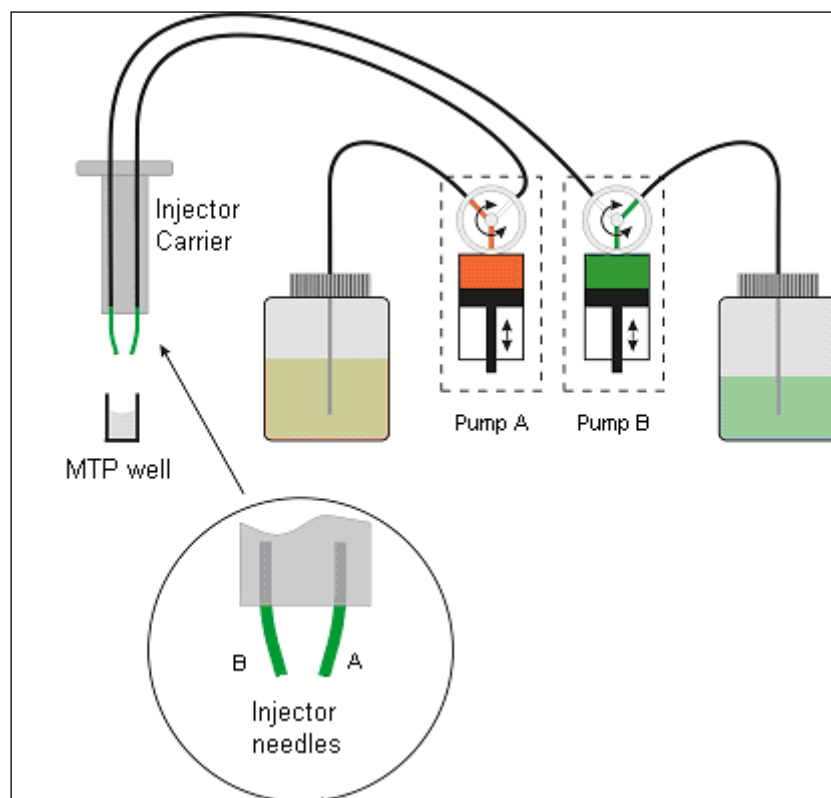


Figure 4 : Vue schématique du module d'injecteur

2.3.3 Options de la pompe d'injection

Deux pompes sont disponibles pour le lecteur Infinite (voir Figure 4 ci-dessus) :

- La pompe A alimente l'aiguille d'injecteur A
- La pompe B alimente l'aiguille d'injecteur B

Le lecteur Infinite peut être équipé d'une pompe (pompe A) ou de deux pompes (pompes A et B) :

- **Option à 1 injecteur (une pompe)** : Un lecteur Infinite équipé d'une pompe permet des injections dans une microplaque à puits conforme SBS, dans laquelle la taille de puits est égale ou supérieure à une microplaque à 384 puits SBS standard.
- **Option à 2 injecteurs (deux pompes)** : Certaines applications, telles que les réactions de luminescence Flash ou les essais de gène rapporteur double, nécessitent l'injection de deux liquides indépendants dans le même puits ; par conséquent, Tecan Austria propose une option à deux injecteurs.

2.3.4 Flacons de stockage et porte-flacons

La boîte de l'injecteur peut accueillir jusqu'à deux flacons de 125 ml.

L'ensemble de flacons standard fourni avec l'option Injecteur se compose de :

- Un flacon de 125 ml et un flacon de 15 ml pour l'**option à 1 injecteur** (une pompe) ou
- Un flacon de 125 ml et deux flacons de 15 ml pour l'**option à 2 injecteurs** (deux pompes).

L'option Injecteur comprend jusqu'à deux porte-flacons conçus pour des tubes de tailles et de volumes différents. Les flacons et les tubes contenant les liquides à injecter peuvent être fixés fermement au porte-flacon à l'aide de cavaliers souples en PVC. Les tubes de la seringue d'injecteur peuvent être insérés dans

une aiguille en carbone atteignant le fond du flacon afin de garantir une aspiration optimale des volumes de liquide même les plus faibles.



Figure 5 : Porte-flacons

2.3.5 Porte-injecteur

Le porte-injecteur, qui comprend les aiguilles d'injecteur, peut facilement être retiré de l'instrument pour l'amorçage ou le lavage du système, et pour l'optimisation de la vitesse d'injection.



Figure 6 : Porte-injecteur

Si l'injecteur est utilisé pendant une mesure ou simplement pour la distribution d'une plaque, le porte-injecteur doit être inséré correctement dans l'instrument. Retirer l'injecteur factice et insérer le porte-injecteur dans le port de l'injecteur. Pousser doucement le porte-injecteur dans le port jusqu'à ce qu'un déclic retentisse.

L'instrument contient un capteur d'injecteur qui contrôle la position correcte du porte-injecteur pour réaliser les opérations d'**injection** et de **distribution**.

Si le porte-injecteur n'est pas correctement inséré, le capteur d'injecteur ne reconnaît pas le porte-injecteur inséré et aucune distribution ni aucune injection n'est possible.

D'autre part, des opérations telles que le lavage et l'amorçage sont activées même si le porte-injecteur est inséré ; par conséquent, toujours s'assurer que le porte-injecteur se trouve dans la position de service pour le lavage et l'amorçage.

Chaque instrument fourni est équipé d'une option permettant d'accueillir un injecteur ultérieurement.



PRECAUTION

**LE PORTE-INJECTEUR DOIT SE TROUVER EN POSITION DE SERVICE POUR LE LAVAGE ET L'AMORÇAGE.
L'AMORÇAGE ET LE LAVAGE NE DOIVENT PAS ETRE REALISES SI L'INJECTEUR SE TROUVE DANS L'INSTRUMENT !**

Figure 7 : Insertion du porte-injecteur dans le port de l'injecteur



CLICK



PRECAUTION

SI LE PORTE-INJECTEUR N'EST PAS CORRECTEMENT INSERE DANS LE PORT DE L'INJECTEUR, LE CAPTEUR D'INJECTEUR NE DETECTERA PAS L'INJECTEUR INSERE ; PAR CONSEQUENT, LE LAVAGE ET L'AMORÇAGE SERONT ACTIVES, CE QUI PEUT ENDOMMAGER L'INSTRUMENT.

2.4 Techniques de mesure

Les sections suivantes présentent les techniques de mesure du lecteur Infinite lorsqu'il est entièrement équipé. Pour synthétiser cette présentation, quelques simplifications ont été apportées. Consulter les références pour plus de détails.

2.4.1 Fluorescence

Le lecteur Infinite offre la possibilité d'appliquer la technique de mesure de fluorescence de base et certaines variantes bien plus exigeantes :

- Intensité de fluorescence (FI) (ou pour simplifier : Fluorescence)
- Transfert d'énergie de fluorescence par résonance (FRET)
- Fluorescence résolue en temps (TRF)
- Polarisation de fluorescence (FP – Infinite F Plex uniquement)

La FI peut également être utilisée pour mesurer le Transfert d'énergie de fluorescence par résonance (FRET). Pour certaines applications de microplaques, le FRET offre des avantages par rapport à la FI et à la TRF, car il simplifie la préparation de l'essai. Il s'applique de préférence pour les études de liaison de **mélange et de mesure**. Par rapport à la FP, le FRET nécessite le marquage approprié des deux partenaires de liaison. D'autre part, le FRET peut utiliser des marqueurs de TRF pour une sensibilité accrue, puis être référencé comme HTRF (TRF homogène).

La TRF ne doit pas être confondue avec les mesures de la durée de vie de fluorescence.

Des molécules fluorescentes émettent une lumière d'une longueur d'onde spécifique lorsqu'elles sont heurtées par de la lumière d'une longueur d'onde plus courte (déplacement de Stokes). En particulier, une seule molécule fluorescente peut apporter un photon de fluorescence (quantum de lumière). Ceci fait partie de l'énergie qui a été absorbée auparavant (excitation électronique), mais elle ne peut pas être libérée suffisamment rapidement en énergie thermique.

Le délai moyen entre excitation et émission est appelé la durée de vie de fluorescence. Pour de nombreuses espèces moléculaires fluorescentes, la durée de vie de fluorescence est de l'ordre de quelques nanosecondes (fluorescence immédiate). Après l'excitation, une émission de fluorescence se produit avec une certaine probabilité (rendement quantique), qui dépend des espèces fluorescentes et des conditions environnementales.

Pour un traité détaillé des techniques et des applications de fluorescence :

Principles of Fluorescence Spectroscopy de Joseph R. Lakowicz, Plenum Press.

A) Intensité de fluorescence (FI)

Dans de nombreuses applications de microplaques, l'intensité d'émission de fluorescence est mesurée pour déterminer l'abondance de composés fluorescents marqués. Dans ces essais, d'autres facteurs ayant une influence sur l'émission de fluorescence doivent être contrôlés à titre expérimental. La température, la valeur du pH, l'oxygène dissous, le type de solvant, etc. peuvent affecter considérablement le rendement quantique de fluorescence et par conséquent, les résultats de mesure.

B) Transfert d'énergie de fluorescence par résonance (FRET)

Dans certaines applications de microplaques, une stratégie évoluée de double marquage est utilisée. L'effet de FRET vous permet de mesurer la quantité des deux composés marqués différemment se trouvant à proximité immédiate. Il convient ainsi parfaitement pour les études de liaison.

Le FRET est principalement une mesure de l'intensité de fluorescence de l'un des deux marqueurs fluorescents (accepteur). Cependant, l'accepteur n'est pas sensible à la longueur d'onde d'excitation de la source lumineuse utilisée. Ainsi, l'accepteur peut recevoir l'énergie d'excitation de l'autre marqueur fluorescent (donneur) si les deux sont spatialement proches. Une condition préalable est l'application de la longueur d'onde d'excitation au donneur. Deuxièmement, le spectre d'émission du donneur doit chevaucher le spectre d'excitation de l'accepteur (conditions de résonance). Néanmoins, le transfert de l'énergie d'excitation du donneur vers l'accepteur est sans rayonnement.

Certaines applications basées sur le FRET utilisent des paires appropriées issues de la famille des protéines fluorescentes, telles que la GFP/YFP (protéine fluorescente verte/jaune, [réf. **Using GFP in FRET-based applications** de Brian A. Pollok et Roger Heim – trends in Cell Biology [Vol.9] Février 1999]). Un aperçu est disponible dans l'article de synthèse – **Application of Fluorescence Resonance Energy Transfer in the Clinical Laboratory: Routine and Research** de J. Szöllösi, et al. in Cytometry 34, page 159-179 (1998).

D'autres applications basées sur le FRET tirent avantage de l'utilisation de marqueurs TRF en tant que donneur. Par exemple, voir **High Throughput Screening** – Marcel Dekker Inc. 1997, New York, Basel, Hong Kong, section 19 Homogeneous, Time-Resolved Fluorescence Method for Drug Discovery de Alfred J. Kolb, et al.

C) Fluorescence résolue en temps (TRF)

La TRF s'applique à une catégorie de marqueurs fluorescents (chélates de lanthanides tels que l'euporium, [réf. **Europium and Samarium in Time-Resolved Fluoroimmunoassays** de T. Ståhlberg, et. al. - American Laboratory, Décembre 1993 page 15]), certains d'entre eux présentant des durées de vie de fluorescence supérieures à 100 microsecondes. Le lecteur Infinite utilise une lampe de flash comme source lumineuse, avec une durée de flash bien inférieure à la durée de vie de fluorescence de ces espèces. Ceci permet de mesurer l'émission de fluorescence à un moment donné, lorsque la lumière parasite et la fluorescence immédiate ont déjà disparu (retard). Ainsi, le fond peut être sensiblement abaissé tandis que la sensibilité est améliorée.

Par conséquent, les avantages de la TRF s'appliquent aux essais utilisant plusieurs marqueurs présentant des durées de vie de fluorescence différentes.

D) Polarisation de fluorescence (FP)

La polarisation de fluorescence (FP) mesure la mobilité rotationnelle d'un composé fluorescent marqué. Par conséquent, la FP convient particulièrement pour les études de liaison, car le mouvement de nutation des petites molécules peut être fortement ralenti après la liaison avec une molécule plus grande.

Les mesures de polarisation de fluorescence sont basées sur la détection de la dépolarisation de l'émission de fluorescence après l'excitation d'une molécule fluorescente par une lumière polarisée. Une molécule fluorescente peut être visualisée comme une antenne. Une telle molécule peut absorber de l'énergie si et seulement si la polarisation de la lumière d'excitation correspond à l'orientation de l'antenne. Pendant la durée de vie de fluorescence, c'est-à-dire la durée pendant laquelle une molécule reste à l'état excité, de petites molécules se diffusent par rotation relativement rapidement. Ainsi, elles se réorientent avant d'émettre leur photon. Par conséquent, et en raison du caractère aléatoire de la diffusion, une lumière d'excitation polarisée linéairement est convertie en une lumière d'émission moins polarisée. Une valeur mP obtenue élevée représente la rotation lente de la molécule marquée, indiquant que la liaison s'est probablement produite. Une valeur mP obtenue faible représente une rotation rapide d'une molécule, indiquant que la liaison ne s'est probablement pas produite.

Le résultat de la mesure FP est calculé à partir de deux mesures d'intensité de fluorescence successives. Elles diffèrent dans l'orientation mutuelle des filtres polarisants, l'un étant placé derrière le filtre d'excitation, l'autre devant le filtre d'émission. En traitant les deux ensembles de données, il est possible de mesurer l'étendue de la modification de l'orientation par le marqueur fluorescent dans l'intervalle entre l'excitation et l'émission.

2.4.2 Absorbance

L'absorbance est une mesure de l'atténuation de la lumière monochromatique lorsqu'elle est diffusée à travers un échantillon. L'absorbance est définie comme :

$$A = \text{LOG}_{10} (I_0 / I_{\text{ÉCHANTILLON}}),$$

Où $I_{\text{ÉCHANTILLON}}$ est l'intensité de lumière diffusée, I_0 l'intensité de lumière non atténuée par l'échantillon. L'unité est affectée à la densité optique (DO)

Ainsi, 2,0 DO signifie une atténuation de $10^{2.0}$ ou multipliée par 100 (1 % de transmission),

1,0 OD signifie une atténuation de $10^{1.0}$ ou multipliée par 10 (10 % de transmission), et

0,1 OD signifie une atténuation de $10^{0.1}$ ou multipliée par 1,26 (79,4 % de transmission).

Si l'échantillon contient une seule espèce absorbante dans cette bande étroite de longueurs d'onde, l'absorbance corrigée de fond (A) est proportionnelle à la concentration correspondante de cette espèce (loi de Lambert-Beer).

2.4.3 Luminescence

Chimiluminescence ou bioluminescence Glow

Le lecteur Infinite fournit une mesure de la chimiluminescence ou bioluminescence Glow. Glow signifie que le test de luminescence rayonne pendant plus d'une minute. Des substrats de luminescence sont disponibles, qui produisent une lumière suffisamment stable pendant des heures.

Par exemple, la luminescence peut être mesurée pour déterminer l'activité d'un composé marqué par une enzyme (peroxydase, phosphatase). Une émission de lumière provient d'un substrat de luminescence décomposé par l'enzyme. En cas de substrat excessif, le signal de luminescence peut être considéré comme proportionnel à l'abondance du composé marqué par une enzyme. Comme avec les essais enzymatiques, le contrôle des conditions environnementales est relativement déterminant (température, valeur du pH).

En ce qui concerne les aspects pratiques des tests de luminescence, voir l'exemple suivant :

Bioluminescence Methods and Protocols, ed. R.A. LaRossa, Methods in Molecular Biology 102, Humana Press, 1998

Transfert d'énergie de bioluminescence par résonance (BRET)

Le BRET est une technologie d'essai cellulaire avancée, non destructive, qui convient parfaitement aux applications protéomiques, notamment la recherche sur les récepteurs et la modélisation des voies de transduction des signaux. Le BRET est basé sur le transfert d'énergie entre les protéines de fusion contenant la *luciférase de Renilla* (Rluc) et une forme mutante de la protéine fluorescente verte (GFP). Le signal du BRET est généré par l'oxydation de p.a. DeepBlueC, une forme dérivée de la coelentérazine, qui maximise la résolution spectrale pour une sensibilité améliorée. Cette technologie d'essai homogène fournit une plateforme simple, robuste et polyvalente avec des applications dans la recherche académique fondamentale ainsi que la recherche appliquée.

Luminescence Flash

Dans les tests de luminescence de type Flash, la mesure n'est effectuée que pendant la distribution du réactif d'activation ou après un court délai (pour les mesures de luminescence Flash avec le lecteur Infinite, voir également 2.3.1 Modes de mesure d'injecteur).

Ces dernières années, les substrats de luminescence ont été améliorés afin de fournir des signaux plus stables. Dans les tests de luminescence de type Glow, le signal de luminescence s'étend sur une vaste échelle de temps (par exemple une demi-vie de 30 min.)

2.5 Système optique

2.5.1 Système d'intensité de fluorescence (configurations M de l'Infinite)

Le système optique du système de fluorescence du haut et du fond des configurations M de l'Infinite est schématisé ci-dessous.

Le système se compose de :

- Système de source lumineuse
- Double monochromateur d'excitation
- Optique de fluorescence du haut
- Double monochromateur d'émission
- et détection par fluorescence

Les flèches pleines indiquent le trajet lumineux de la lumière d'excitation ; les flèches en pointillés indiquent le trajet lumineux de la lumière d'émission.

Pour simplifier le système, la **surveillance de flash** (voir la section Surveillance de flash, page 26) n'est pas illustrée. Chaque unité de monochromateur, (2) et (4), comporte deux grilles ; une vue schématique plus détaillée se trouve dans les figures ci-dessous.

Schéma de l'intensité de fluorescence du haut

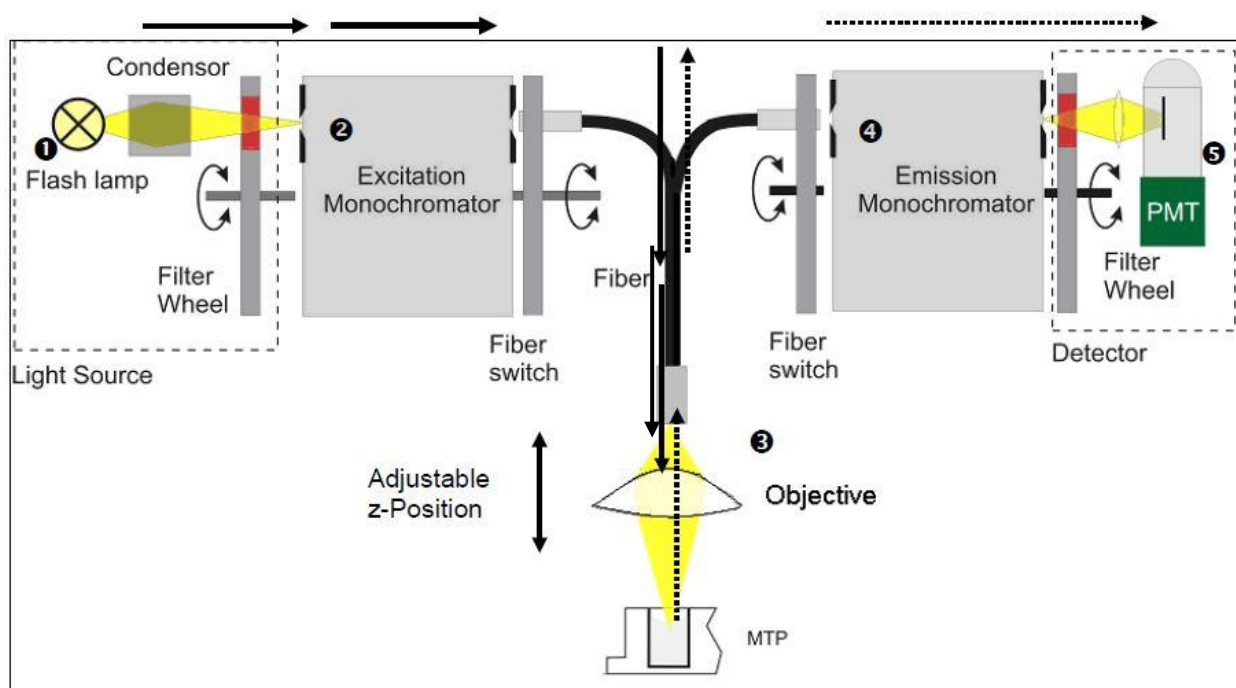


Figure 8 : Système optique du système de fluorescence du haut

Schéma de l'intensité de fluorescence du fond

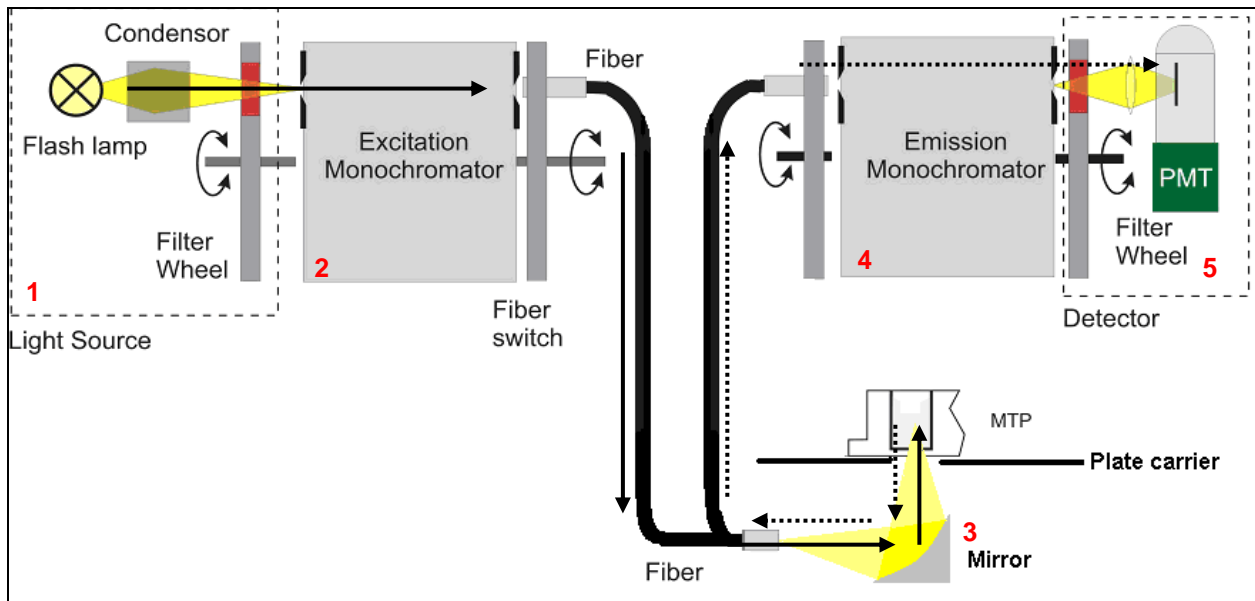


Figure 9 : Système optique du système de fluorescence du fond

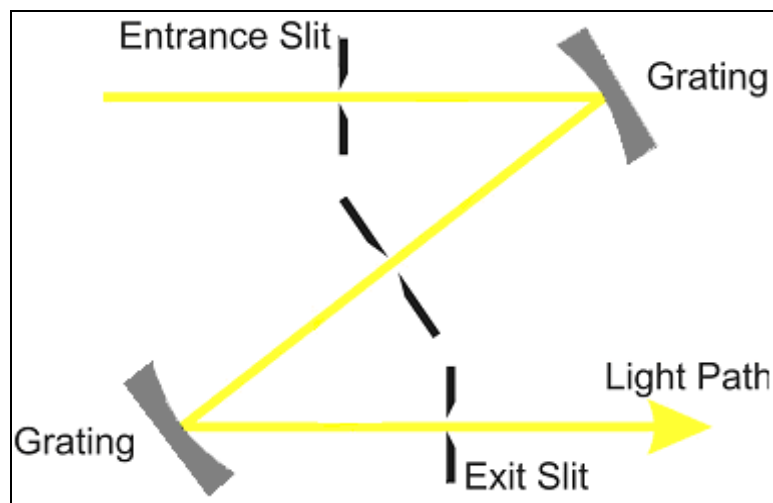


Figure 10 : Vue détaillée de l'unité de double monochromateur d'excitation et d'émission

Système de source lumineuse d'intensité de fluorescence

Les applications de fluorescence requièrent généralement une gamme spécifique de longueurs d'onde d'excitation. De plus, une lumière d'excitation pulsée peut être nécessaire (Fluorescence résolue en temps [TRF]).

Le système de source lumineuse pour les configurations M de l'Infinite est constitué des composants suivants :

- Lampe de flash
- Optique de condensation
- Roue porte-filtres
- Double monochromateur d'excitation
- Faisceau de fibre optique
- Surveillance de la lampe de flash

Lampe de flash

La configuration M de l'Infinite utilise une lampe à décharge en arc Xénon à haute énergie (lampe de flash). Le flash se déclenche à travers un petit espace entre deux électrodes. L'ampoule de lampe contient une atmosphère de xénon. Le flash disparaît en quelques microsecondes. La fréquence du flash est de 40 Hz.

La configuration M de l'Infinite utilise la lampe de flash pour les mesures de fluorescence et d'absorbance, bien qu'une lumière pulsée ne soit obligatoire que pour la TRF. Les principaux avantages de ce type singulier de lampe sont :

Haute intensité de l'UV profond au proche IR

Très longue durée de vie

De nombreuses applications – un seul type de lampe

Aucun temps de chauffage requis

Condenseur

Les optiques de type condenseur issues de la silice fondue concentrent la lumière flash sur la fente d'entrée du monochromateur d'excitation.

Roue porte-filtres

Une roue porte-filtres se trouve entre le condenseur et le monochromateur d'excitation. La roue porte-filtres contient des filtres optiques de longueur d'onde spécifique, qui sont nécessaires pour bloquer les ordres de diffraction non souhaités produits par les grilles optiques. Les filtres sont réglés automatiquement.

Double monochromateur d'excitation

Dans les applications de fluorescence et d'absorbance, le double monochromateur d'excitation est utilisé pour sélectionner toute longueur d'onde souhaitée du spectre de la lampe de flash dans la gamme de 230 à 850 nm (version spectralement améliorée) pour l'intensité de fluorescence et de 230 nm à 1 000 nm pour les applications d'absorbance.

Dans de nombreux cas, le spectre d'émission de fluorescence ne dépend pas de la longueur d'onde d'excitation exacte ; par conséquent, afin d'obtenir un signal de fluorescence total maximal, une large bande passante d'excitation doit être utilisée.

La bande passante du dispositif monochromateur des configurations M de l'Infinite est < 9 nm pour les longueurs d'onde > 315 nm et < 5 nm pour les longueurs d'onde ≤ 315 nm.

Pour une description plus détaillée du fonctionnement d'un monochromateur, voir ci-dessous.

Description du fonctionnement d'un monochromateur

Un monochromateur est un instrument optique qui permet la sélection d'une longueur d'onde à partir d'un spectre optique défini. Son mode de fonctionnement peut être comparé à un filtre optique accordable, qui permet d'ajuster à la fois la longueur d'onde et la bande passante.

Un monochromateur est constitué d'une fente d'entrée, d'un élément dispersif et d'une fente de sortie. L'élément dispersif diffracte la lumière dans le spectre optique et la projette sur la fente de sortie. Un élément dispersif peut être réalisé en utilisant un prisme en verre ou une grille optique. Les monochromateurs modernes tels que ceux utilisés dans les configurations M de l'Infinite sont conçus avec des grilles optiques.

La rotation de la grille optique autour de son axe vertical déplace le spectre dans la fente de sortie et seule une partie du spectre (bande passante) traverse la

fente de sortie. Cela signifie que lorsque la fente d'entrée du monochromateur est éclairée avec de la lumière blanche, seule la lumière d'une longueur d'onde spécifique (lumière monochromatique) traverse la fente de sortie. La longueur d'onde de cette lumière est définie par l'angle de rotation de la grille optique. La bande passante est définie par la largeur de la fente de sortie. La bande passante est définie comme largeur à mi-hauteur (FWHM, full width at half maximum).

Les monochromateurs bloquent les longueurs d'onde non souhaitées, s'élevant généralement à 10^3 . Cela signifie que lorsque le monochromateur est réglé pour une lumière dont la longueur d'onde est de 500 nm et que le détecteur détecte un signal de 10 000 décomptes, la lumière de longueurs d'onde différentes crée un signal de seulement 10 décomptes. Pour les applications de fluorescence, ce blocage est souvent insuffisant, car la lumière fluorescente à détecter est généralement bien plus faible que la lumière d'excitation. Pour obtenir un niveau de blocage plus élevé, deux monochromateurs sont raccordés en série, c'est-à-dire que la fente de sortie du premier monochromateur agit simultanément comme la fente d'entrée du second monochromateur. Ce système est appelé double monochromateur. Dans ce cas, le décompte de blocage atteint un facteur de 10^6 , une valeur généralement atteinte par des filtres d'interférence.

Dans les configurations M de l'Infinite, un double monochromateur est installé à la fois du côté excitation et du côté détection. Cela permet une sélection simple des longueurs d'onde d'excitation et de fluorescence sans aucune limitation par les filtres de seuil.

Faisceau de fibre optique

La lumière sortant de la fente de sortie du monochromateur d'excitation est couplée dans un faisceau de fibre optique qui guide la lumière soit vers l'optique de mesure du haut, soit vers l'optique de mesure du fond. L'extrémité inférieure de chaque faisceau de fibre agit comme une source lumineuse de couleur spécifique. Dans les deux cas, une petite partie de la lumière est toujours guidée vers la diode de surveillance de la lampe de flash.

Surveillance de flash

L'énergie lumineuse des flashes individuels peut varier légèrement. Pour prendre ces variations en compte, une photodiode au silicium surveille l'énergie de chaque flash individuel. Les résultats de mesure de fluorescence et d'absorbance sont compensés en conséquence.

Optiques de fluorescence du haut et du fond

La lumière flash pénètre dans le système optique et est concentrée par le condenseur sur la fente d'entrée du monochromateur d'excitation. La longueur d'onde de la lumière d'excitation est sélectionnée dans le monochromateur. Après avoir traversé le monochromateur, la lumière d'excitation est couplée dans un faisceau de fibre, qui guide la lumière vers la tête de mesure du haut ou du fond. La lumière est ensuite focalisée dans l'échantillon par le système de lentilles du haut/fond.

La lumière de fluorescence est de nouveau collectée par le système de lentilles du haut/fond, couplée dans des faisceaux de fibre de fluorescence et guidée dans le système de détection.

L'optique de mesure de fluorescence du haut est constituée des composants suivants :

- Système de lentilles d'intensité de fluorescence du haut
- Faisceau de fibre de fluorescence
- L'optique du fond se compose des éléments suivants :
- Miroir de fluorescence du fond
- Faisceau de fibre de fluorescence

Système de lentilles d'intensité de fluorescence du haut

Le côté sortie du faisceau agit comme une source lumineuse de couleur spécifique. Le système de lentilles à l'extrémité de la fibre d'excitation du haut est conçu pour concentrer la lumière d'excitation dans l'échantillon. De plus, il collecte la lumière de fluorescence et la refocalise dans le faisceau de fibre de fluorescence.

Les lentilles d'objectif sont fabriquées en silice fondue. Ce matériau fournit une transmission élevée des UV et est quasiment exempt d'auto-fluorescence.

Taille du spot d'excitation

La taille de la section transversale du faisceau de fibre détermine le diamètre du rétrécissement de faisceau (taille du spot) dans chaque puits de la microplaque. Le diamètre du spot pour la série M est d'environ 3 mm pour l'optique du haut et de 2 mm pour l'optique du fond.

Faisceau de fibre de fluorescence du haut et du fond

Le faisceau de fibre raccordé à la tête de mesure du haut/fond contient un mélange homogène de fibres d'excitation et d'émission. Les fibres d'émission guident la lumière de fluorescence vers la tête du monochromateur d'émission où un système de lentilles concentre la lumière sur la fente d'entrée du monochromateur d'émission.

Miroir de fluorescence du fond

Le côté sortie du faisceau agit comme une source lumineuse de couleur spécifique. Le miroir à l'extrémité de la fibre d'excitation du fond est conçu pour concentrer la lumière d'excitation dans l'échantillon. De plus, il collecte la lumière de fluorescence et la refocalise dans le faisceau de fibre de fluorescence.

Position Z (Fluorescence du haut uniquement sur les configurations M de l'Infinite)

La hauteur de l'objectif au-dessus de l'échantillon peut être ajustée à l'aide de la fonction Position Z. Comme la lumière d'excitation est reflétée par le liquide échantillon, l'ajustement de la profondeur (Z) aide à maximiser le rapport signal-bruit. Pour de plus amples détails sur la position Z, voir le chapitre 4.5.2 Optimisation Z (Mesures de FI du haut avec uniquement des configurations M de l'Infinite).

Détection de l'intensité de fluorescence

Le système de détection de la fluorescence est utilisé pour les deux modes de mesure : fluorescence par le dessus (Haut) et par le dessous des puits de la microplaque (Fond).

La lumière de fluorescence est concentrée sur la fente d'entrée du monochromateur d'émission. Après avoir traversé le monochromateur, la lumière est focalisée sur le détecteur (PMT). Une roue porte-filtres se trouve entre le monochromateur et le PMT.

Le système de détection de la fluorescence est constitué des composants suivants :

- Double monochromateur d'émission
- Roue porte-filtres PMT
- Détecteur PMT

Double monochromateur d'émission

Similaire au double monochromateur d'excitation, le double monochromateur d'émission est utilisé pour sélectionner une longueur d'onde du signal de fluorescence.

Il agit comme un filtre ajustable pour différencier la diffusion de la lumière d'excitation et la fluorescence non spécifique. La gamme de longueur d'onde peut être sélectionnée entre 280 et 850 nm dans l'instrument spectralement amélioré. La bande passante est de 20 nm.

Roue porte-filtres PMT

La roue porte-filtres contient des filtres optiques de longueur d'onde spécifique, qui sont nécessaires pour bloquer les ordres de diffraction non souhaités produits par les grilles optiques. Les filtres sont réglés automatiquement.

Détecteur PMT

Un tube photomultiplicateur (PMT) est utilisé pour détecter de tels niveaux de luminosité faibles associés à la fluorescence. Le PMT de la version spectralement améliorée des configurations M de l'Infinite est sensible jusqu'au proche IR (PIR) tout en présentant un faible courant d'obscurité. Les circuits électroniques utilisent une conversion analogique/numérique du courant de sortie du PMT. Le réglage du gain du PMT permet la mesure d'une vaste gamme de concentrations dans les domaines de concentration plus faibles ou plus élevés. Pour plus de détails, voir la section 4.5.1 Paramètres de l'instrument.

2.5.2 Système d'intensité de fluorescence (configurations F de l'Infinite)

Le système d'intensité de fluorescence des configurations F de l'instrument Infinite est composé des éléments suivants :

- Source lumineuse
- Optique de fluorescence
- Système de détection de la fluorescence

Le système de fluorescence du haut est illustré dans la Figure 11, et celui du fond dans la Figure 12. Les flèches pleines indiquent le trajet lumineux de la lumière d'excitation ; les flèches en pointillés indiquent le trajet lumineux de la lumière d'émission.

Schéma de l'intensité de fluorescence du haut

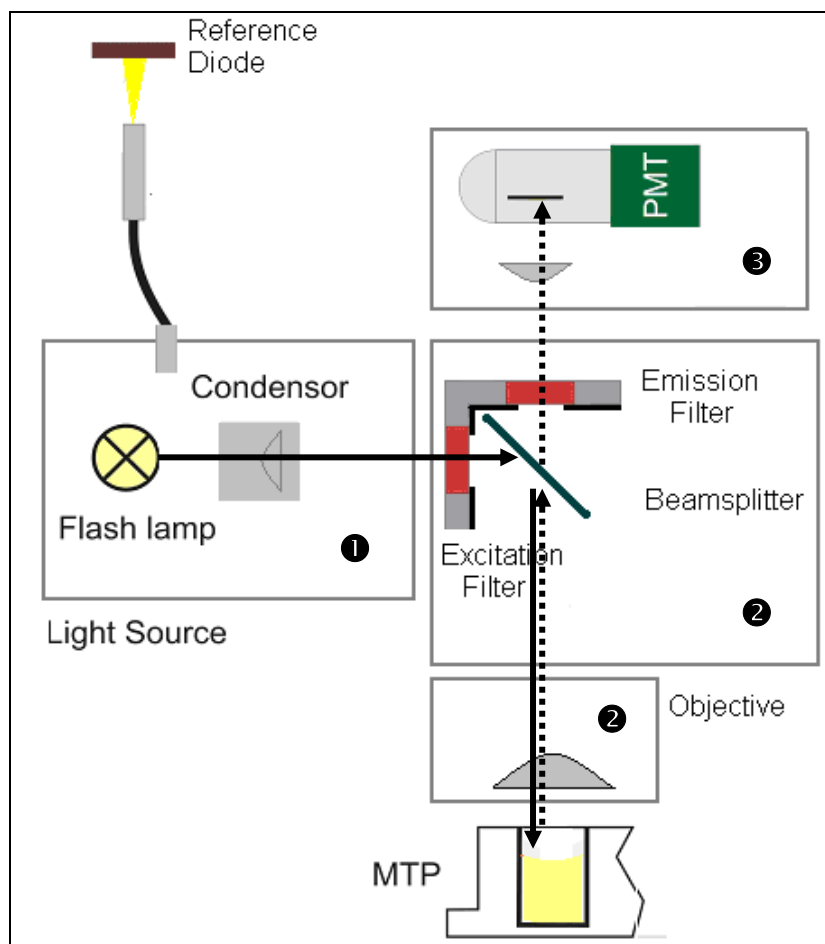


Figure 11 : Système d'intensité de fluorescence du haut des configurations F de l'Infinite

Schéma de l'intensité de fluorescence du fond

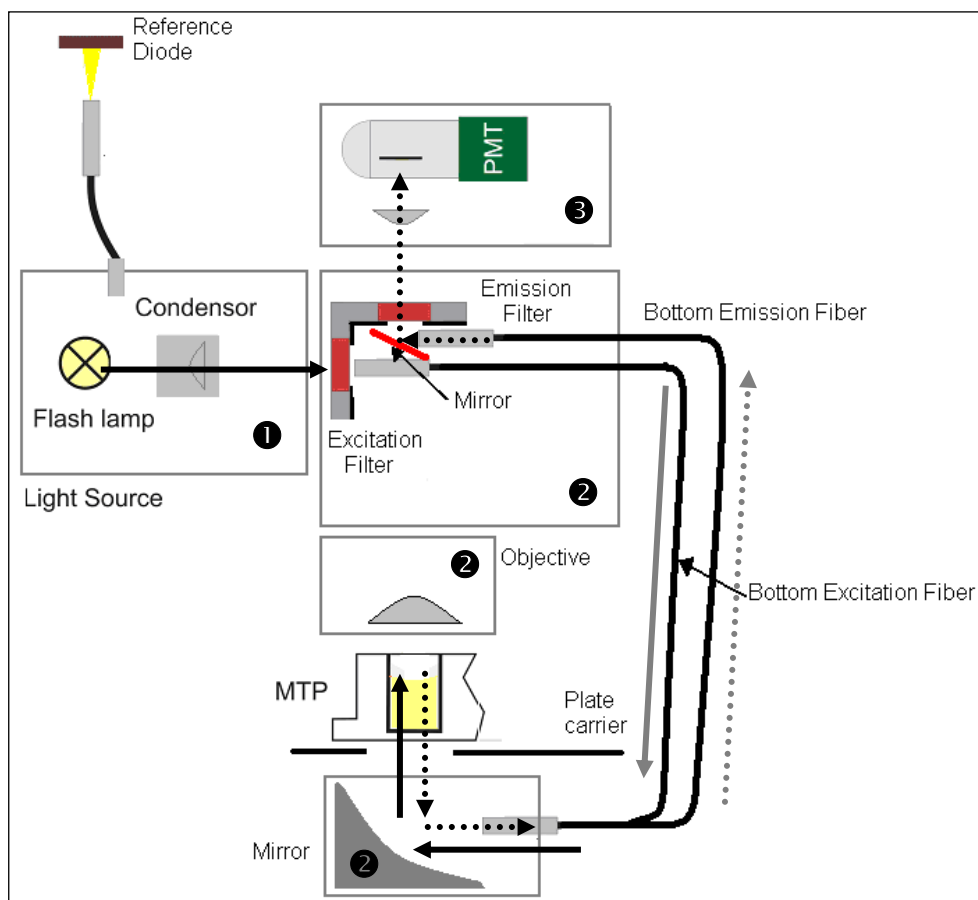


Figure 12 : Système d'intensité de fluorescence du fond des configurations F de l'Infinite

Système de source lumineuse

La lumière flash pénètre dans le système optique en étant focalisée dans une fente contenant le filtre. Cette ouverture agit comme une source lumineuse de couleur spécifique.

Le système de source lumineuse pour les configurations F de l'Infinite est constitué des composants suivants :

- Lampe de flash
- Optique de condensation
- Filtres d'excitation
- Surveillance de la lampe de flash

Lampe de flash

La configuration F de l'Infinite utilise une lampe à décharge en arc Xénon à haute énergie (lampe de flash). Le flash se déclenche à travers un petit espace entre deux électrodes. L'ampoule de lampe contient une atmosphère de xénon. Le flash disparaît en quelques microsecondes.

La fréquence du flash est de 40 Hz.

La configuration F de l'Infinite utilise la lampe de flash pour les mesures de fluorescence et d'absorbance, bien qu'une lumière pulsée ne soit obligatoire que pour la TRF. Les principaux avantages de ce type singulier de lampe sont :

- Haute intensité de l'UV profond au proche IR
- Très longue durée de vie
- De nombreuses applications – un seul type de lampe
- Aucun temps de chauffage requis

Condenseur

Les optiques de type condenseur concentrent la lumière sur la fente d'entrée du système optique de fluorescence.

Filtre d'excitation

Les filtres passe-bande de longueur d'onde spécifique servent à sélectionner la gamme de longueur d'onde concernée à partir du spectre complet de la lumière d'excitation provenant de la lampe de flash. Les filtres sont installés dans des porte-filtres amovibles et sont interchangeables.

Surveillance de flash

L'énergie lumineuse des flashes individuels peut varier légèrement. Pour prendre ces variations en compte, une photodiode au silicium de référence surveille l'énergie de chaque flash individuel. Les résultats de mesure de fluorescence sont compensés en conséquence.

Optique de fluorescence du haut

La lumière flash pénètre dans le système optique en étant focalisée dans une fente, puis elle traverse le filtre d'excitation. Selon la longueur d'onde mesurée, soit un miroir semi-transparent (50 %), soit un miroir dichroïque spécial reflète la lumière en direction de la microplaque. Le système de lentilles d'objectif concentre la lumière sur l'échantillon.

L'émission de fluorescence est mesurée par le dessus du puits. La lumière de fluorescence est collectée par l'objectif, dirigée à travers le miroir approprié, et focalisée dans la fente de sortie pour la détection.

Système de lentilles d'objectif

L'objectif est conçu pour collecter la lumière fluorescente émise par un puits et il la concentre dans la fente de sortie vers le système de détection.

Les lentilles d'objectif sont fabriquées en silice fondue. Ce matériau fournit une transmission élevée des UV et est quasiment exempt d'auto-fluorescence.

Sélection du miroir – Fluorescence du haut (uniquement configurations F de l'Infinite)

La configuration F de l'Infinite est équipée d'un porte-miroir qui loge un miroir à 50 % ainsi qu'un miroir dichroïque 510.

L'avantage du miroir à 50 % est qu'il fonctionne quelle que soit la paire de longueurs d'onde d'excitation et d'émission. Cependant, 50 % de la lumière d'excitation est dirigée dans l'échantillon ; par conséquent, 50 % de la lumière d'émission sortant de l'échantillon sont perdus.

Les miroirs dichroïques dépendent de la longueur d'onde et sont conçus pour réfléchir quasiment entièrement une certaine gamme de longueurs d'onde. Les miroirs dichroïques permettent un haut pouvoir réfléchissant de la lumière d'excitation et une transmission élevée de la lumière d'émission ; ils fournissent généralement un meilleur rapport signal-bruit par rapport aux miroirs à 50 %.

Disponibles pour des formats de plaque allant jusqu'à 384 puits.



Note

Un miroir dichroïque doit correspondre aux longueurs d'onde d'excitation et d'émission de fluorescence sélectionnées.

Type de miroir	Réflexion (Excitation)	Transmission (Émission)
Miroir à 50 %	230 – 900 nm	230 – 900 nm
Dichroïque 510 (par ex. fluorescéine)	320 – 500 nm	520 – 780 nm

Selon les longueurs d'onde définies dans le script de mesure, le miroir dichroïque est automatiquement sélectionné si les deux longueurs d'onde d'excitation et d'émission correspondent à la gamme spécifiée de ce miroir. Si la longueur d'onde d'excitation ou d'émission ne correspond pas aux gammes du miroir dichroïque, le miroir à 50 % est automatiquement sélectionné pour la mesure.

Optique de fluorescence du fond

La lumière flash pénètre dans le système optique en étant focalisée dans une fente, puis elle traverse le filtre d'excitation. La fibre d'excitation du fond guide la lumière vers la sonde optique du fond, qui se compose d'un miroir elliptique qui focalise la lumière à travers le fond de la microplaque dans le puits. La lumière émise est concentrée sur la fibre d'excitation du fond, qui guide la lumière sur un miroir à travers le filtre d'émission jusqu'au système de détection de la fluorescence.

Détection de la fluorescence

Filtre d'émission

Les filtres passe-bande de longueur d'onde spécifique servent à différencier les signaux de fluorescence non spécifiques de la lumière d'émission concernée spécifique à l'échantillon. Les filtres sont installés dans des porte-filtres amovibles et sont interchangeables.

Des filtres de fluorescence peuvent être utilisés indistinctement comme filtres d'excitation ou d'émission, selon les exigences de mesure.

Le diamètre du spot pour les configurations F de l'Infinite est d'environ 2 mm.

Détecteur PMT

Un tube photomultiplicateur (PMT) est utilisé pour détecter de tels niveaux de luminosité faibles comme ceux associés à la fluorescence. Pour plus de détails, voir la section Détection de l'intensité de fluorescence, page 28.

2.5.3 *Système de polarisation de fluorescence (Infinite F Plex uniquement)*

Pour les détails techniques, veuillez vous reporter au chapitre 2.5.2 Système d'intensité de fluorescence (configurations F de l'Infinite).

L'Infinite F Plex, la configuration F de l'Infinite pour les mesures de polarisation de fluorescence (FP), est fourni avec un porte-filtres FP standard. Le porte-filtres est équipé de filtres et de polariseurs pour l'excitation et l'émission, respectivement à 485 et 535 nm, et il peut être appliqué pour la mesure, par exemple dans les applications de FP basées sur la fluorescéine.

Pour des détails sur le montage de polariseurs et de filtres FP, veuillez consulter le chapitre 4.4 Définition des porte-filtres (configurations F de l'Infinite).

2.5.4 Système d'absorbance (configurations F de l'Infinite)

Pour des mesures d'absorbance, un trajet optique similaire au trajet optique pour l'excitation de fluorescence est utilisé. Le module de mesure de l'absorbance est situé sous le porte-plaque. Il mesure la lumière transmise à travers l'échantillon. Avant une mesure de la microplaque, une mesure de référence est réalisée avec le porte-plaque sorti du faisceau lumineux (voir également 2.4.2 Absorbance).

Le système d'absorbance est illustré dans la Figure 13 et se compose des éléments suivants :

- Source lumineuse
- Optique d'absorbance
- Module de détection d'absorbance

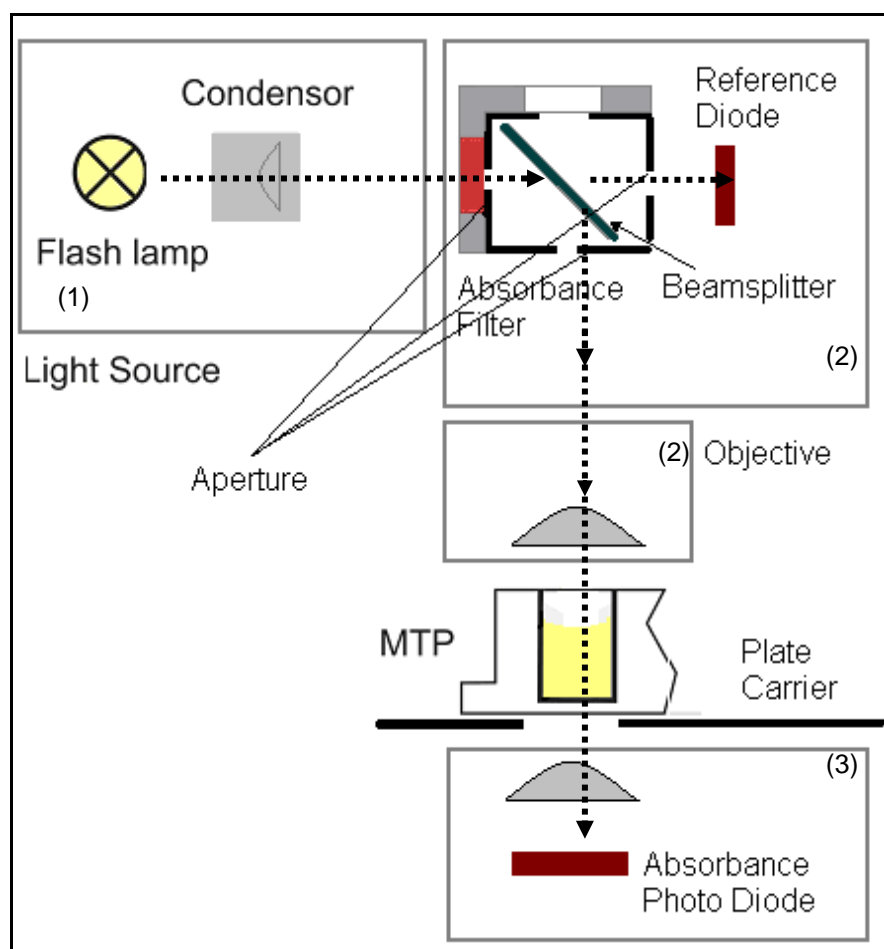


Figure 13 : Système d'absorbance des configurations F de l'Infinite

Système de source lumineuse

Le système de source lumineuse d'absorbance est similaire au système de fluorescence du haut.

Filtre passe-bande

Dans les applications d'absorbance, les filtres optiques de type passe-bande sont nécessaires pour sélectionner les longueurs d'onde utiles à partir du spectre de la lampe de flash. Les filtres sont montés dans des porte-filtres amovibles.

Filtre d'absorbance

Les mesures d'absorbance nécessitent des filtres passe-bande relativement étroits (2 – 10 nm) avec des pentes raides.

Optique d'absorbance

Le porte-miroir possède une position d'absorbance. Une paire de petites fentes forme un faisceau lumineux étroit et davantage collimaté par rapport à l'excitation de fluorescence.

La lumière focalisée à travers le liquide distribué est légèrement réfractée au niveau des interfaces entre l'air, le liquide et le fond de la plaque. Pour réaliser une mesure fiable en présence du ménisque, une lentille de focalisation recollecte les rayons lumineux, qui peuvent avoir été réfractés trop loin de l'axe optique.

La taille du spot du faisceau lumineux d'absorbance est de 0,5 mm (diamètre).

Détection d'absorbance

Une photodiode au silicium est utilisée pour la mesure du faisceau lumineux. Elle est sensible à une vaste gamme de longueurs d'onde. La photodiode convient parfaitement pour les niveaux de luminosité des mesures d'absorbance jusqu'à 4 DO.



Note

Pour la mesure d'absorbance des acides nucléiques de faible volume (2 µl), utiliser la plaque NanoQuant Plate™ de Tecan.

Ce dispositif permet de mesurer 16 échantillons différents au cours d'une mesure.

Pour obtenir des informations détaillées, veuillez contacter votre distributeur Tecan local ou visitez le site : www.tecan.com.

2.5.5 Système d'absorbance (configurations M de l'Infinite)

Pour des mesures d'absorbance, un trajet optique similaire au trajet optique pour l'excitation de fluorescence est utilisé.

Le système d'absorbance se compose de :

- source lumineuse
- monochromateur d'excitation
- optique d'absorbance de la plaque MT
- module de mesure d'absorbance de la plaque MT

Les optiques de type condenseur concentrent la lumière à travers les filtres d'excitation, puis sur la fente d'entrée du monochromateur d'excitation. Un faisceau de fibres guide alors la lumière du monochromateur d'excitation vers l'optique d'absorbance de la plaque MT, qui focalise la lumière dans les puits. Le module de mesure d'absorbance de la plaque MT est situé sous le porte-plaque. Ces modules mesurent la lumière transmise à travers l'échantillon.

Avant une mesure de la microplaque (plaque MT), une mesure de référence est réalisée avec le porte-plaque sorti du faisceau lumineux.

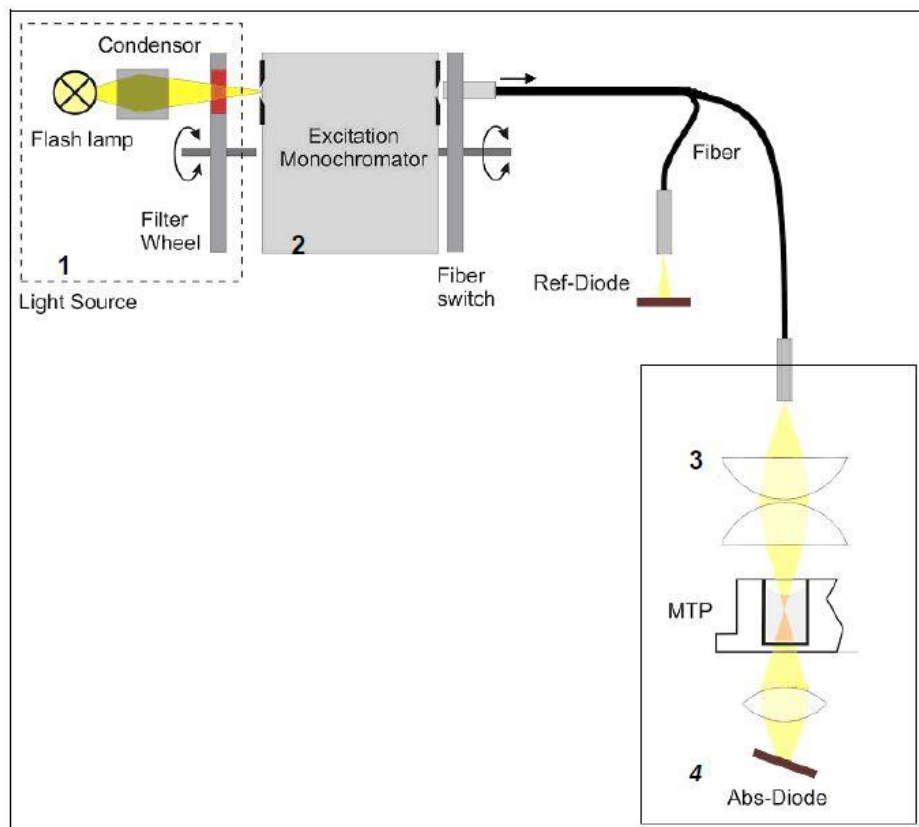


Figure 14 : Système optique d'absorbance pour les configurations M de l'Infinite

Pour plus de détails sur la source lumineuse (1) et le monochromateur d'excitation (2), veuillez vous reporter à la section Système de source lumineuse d'intensité de fluorescence, page 24.

Optique d'absorbance de la plaque MT

Un faisceau de fibres guide la lumière du monochromateur d'excitation vers l'optique d'absorbance de la plaque MT.

L'optique d'absorbance se compose d'une paire de lentilles qui focalisent le faisceau lumineux dans le puits de la microplaque.

La taille du spot du faisceau lumineux d'absorbance est de 0,7 mm de diamètre.

Détection d'absorbance de la plaque MT

Une photodiode au silicium est utilisée pour la mesure de la lumière transmise. Elle est sensible à une vaste gamme de longueurs d'onde. La photodiode convient parfaitement pour les niveaux de luminosité des mesures d'absorbance jusqu'à 4 DO.

Note

Pour la mesure d'absorbance des acides nucléiques de faible volume (2 µl), utiliser la plaque NanoQuant Plate™ de Tecan.

Ce dispositif permet de mesurer 16 échantillons différents au cours d'une seule mesure.

Pour obtenir des informations détaillées, veuillez contacter votre distributeur Tecan local ou visitez le site : www.tecan.com.



Correction de la longueur du trajet lumineux

La correction de la longueur du trajet lumineux, pour les lecteurs Infinite avec des configurations comportant des monochromateurs, peut être utilisée pour corriger les valeurs d'absorbance mesurées d'échantillons dans des microplaques pour une longueur du trajet lumineux de 1 cm, afin de comparer les résultats de mesure avec ceux obtenus avec des cuvettes ou pour réaliser une analyse quantitative d'échantillons sur la base de leur coefficient d'extinction.

Selon la loi de Lambert-Beer, la quantité de lumière absorbée est proportionnelle à la concentration de l'échantillon et à longueur du trajet de la lumière traversant l'échantillon. Contrairement à une cuvette standard avec une longueur du trajet lumineux de 1 cm, le trajet lumineux dans une microplaque est inconnu et dépend du volume de remplissage des puits. Pour les solutions aqueuses, la longueur du trajet lumineux peut être calculée à partir des valeurs d'absorbance pour l'eau enregistrées dans la gamme de longueur d'onde du proche infrarouge (900 nm à 1 000 nm) en utilisant une cuvette et la microplaque respective.



Note

L'absorption de l'eau dépend de la température. Veuillez vous assurer que toutes les mesures sont réalisées exactement à la même température.



Note

Toute absorption de lumière des composants de dosage entre 900 et 1 000 nm interfère avec la correction de la longueur du trajet lumineux.



Note

Veuillez noter que le tampon (concentration de sel), les solvants organiques, le ménisque et les caractéristiques de la plaque peuvent affecter la mesure de correction de la longueur du trajet lumineux.



PRECAUTION

LES ECHANTILLONS TROUBLES PEUVENT ENTRAINER LA RÉDUCTION DE LA LONGUEUR DU TRAJET LUMINEUX ESTIMÉE EN RAISON DE LA DIFFUSION DE LA LUMIÈRE. LA CORRECTION DE LA LONGUEUR DU TRAJET LUMINEUX AVEC UNE CUVETTE NE COMPENSE PAS CET EFFET.

Le calcul de la **longueur du trajet lumineux** de l'échantillon est réalisé comme suit :

$$\text{Longueur du trajet lumineux}_{\text{Échantillon}} = (A_{TW} - A_{RW}) / (A_{\text{Eau}}) * 1 \text{ cm}$$

A_{TW} = Absorption de l'échantillon aqueux à la longueur d'onde de test

A_{RW} = Absorption de l'échantillon aqueux à la longueur d'onde de référence

A_{Eau} = A_{TW} moins A_{RW} de l'eau dans une cuvette de 1 cm (= Facteur de correction)

La longueur du trajet lumineux calculée est finalement utilisée pour corriger l'absorbance de l'échantillon ($A_{\text{Échantillon}}$) à une longueur d'onde spécifique du colorant à 1 cm ($A_{\text{ÉchantillonCorrigée}}$):

$$A_{\text{ÉchantillonCorrigée}} = A_{\text{Échantillon}} / \text{Longueur d'onde du trajet lumineux}_{\text{Échantillon}}$$

2.5.6 Système de luminescence

Le système de luminescence du lecteur Infinite se compose des éléments suivants :

- Optique de luminescence
- Module de détection (PMT de comptage de photon unique)

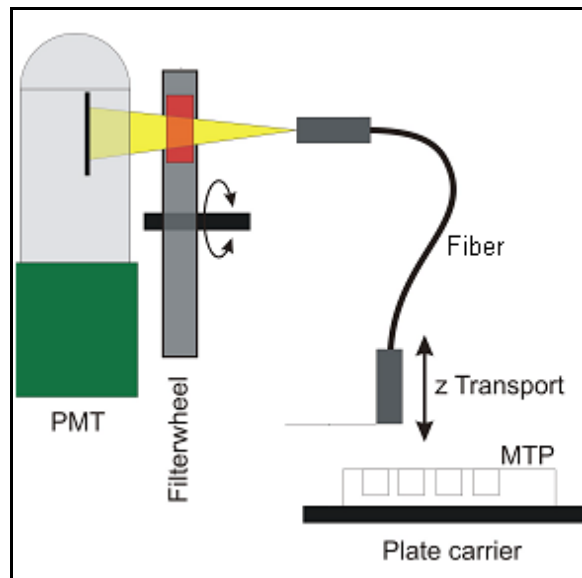


Figure 15 : Système optique de luminescence

Le faisceau de fibre de luminescence guide la lumière de l'échantillon vers le module de détection (PMT) en passant par une roue porte-filtres. Le PMT (tube photomultiplicateur) de comptage de photon est conçu pour des applications en chimiluminescence et en bioluminescence fournissant une plage dynamique élevée. Le bruit extrêmement faible et la haute sensibilité permettent la détection de niveaux de luminosité très faibles.

La position Z du faisceau de fibre de luminescence fixé sur le porte-optique est ajustée automatiquement par le logiciel et dépend du fichier de définition de plaque sélectionné. Comme la lumière est réfractée à la surface de l'échantillon liquide, l'ajustement de la profondeur (Z) aide à maximiser le rapport signal-bruit et à réduire la diaphonie.

Optique de luminescence

En mode de mesure de luminescence, le lecteur Infinite utilise une position fixe de la microplaque et une tête de mesure de luminescence mobile (voir Figure 15 : Système optique de luminescence). L'épaisseur de la plaque est définie en sélectionnant le type de plaque correspondant dans le logiciel (voir la notice d'utilisation du logiciel i-control).

Fibre

Une fibre de verre guide la lumière de l'échantillon vers le module de détection. La fibre est conçue pour mesurer des plaques de 6 à 384 puits.

Roue porte-filtres

Une roue porte-filtres à 6 positions de filtres devant la fenêtre du PMT est commutée sur le canal de luminescence requis. La sensibilité du système de détection rend nécessaire l'atténuation des hauts niveaux de lumière de luminescence ; par conséquent, la roue porte-filtres peut également commuter un filtre à densité neutre à travers la sortie de fibre sélectionnée.

Position de la roue porte-filtres	Filtre
Position 1	Lumi Vert*
Position 2	Lumi Magenta*
Position 3	Filtre à densité neutre DO2
Position 4	Pas d'atténuation
Position 5	Rouge NB **
Position 6	Bleu2 NB **

* recommandé pour l'essai BRET² et l'essai ChromaGlo - Luciferase

** recommandé pour l'essai NanoBRET™

Le filtre à densité neutre DO2 sert à atténuer les hauts niveaux de luminosité par un facteur de 100 (correspondant à une absorbance de 2 DO). Les valeurs obtenues sont automatiquement mises à l'échelle pour correspondre aux décomptes par seconde et sont affichées en conséquence dans les résultats fournis par le logiciel.

Voir Figure 16 à Figure 19 pour les spectres de transmission des filtres de luminescence.

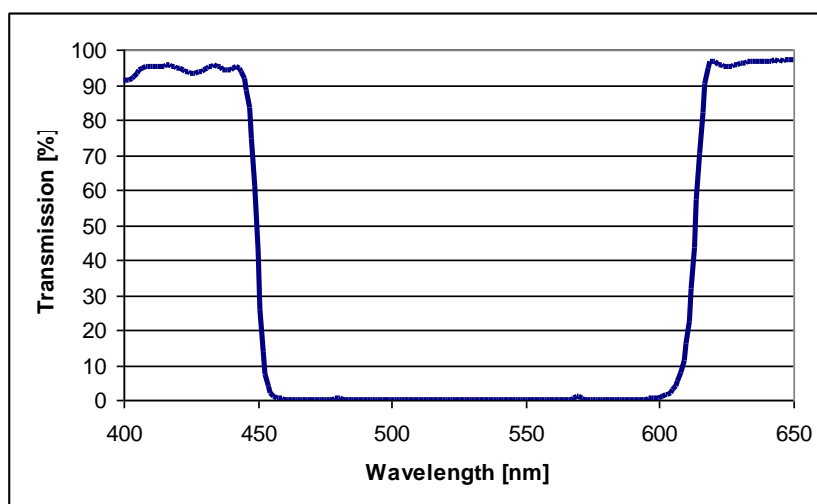


Figure 16 : Spectre de transmission du filtre **Lumi Magenta**

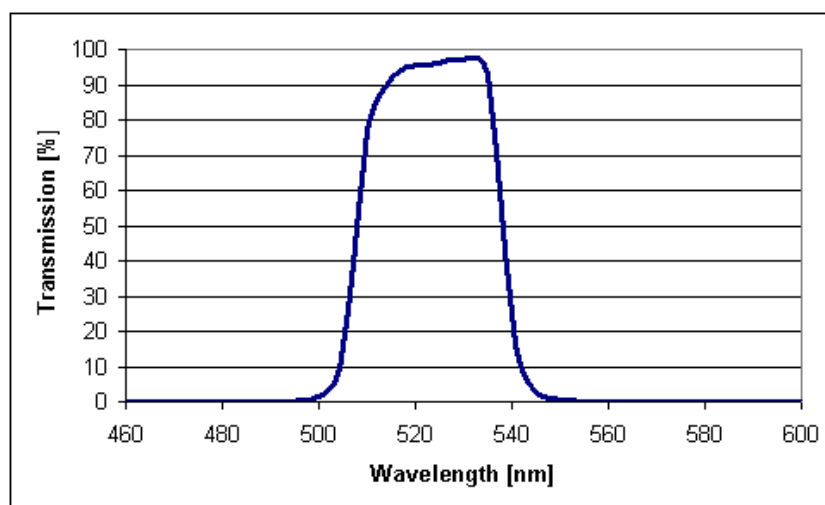


Figure 17 : Spectre de transmission du filtre **Lumi Vert**

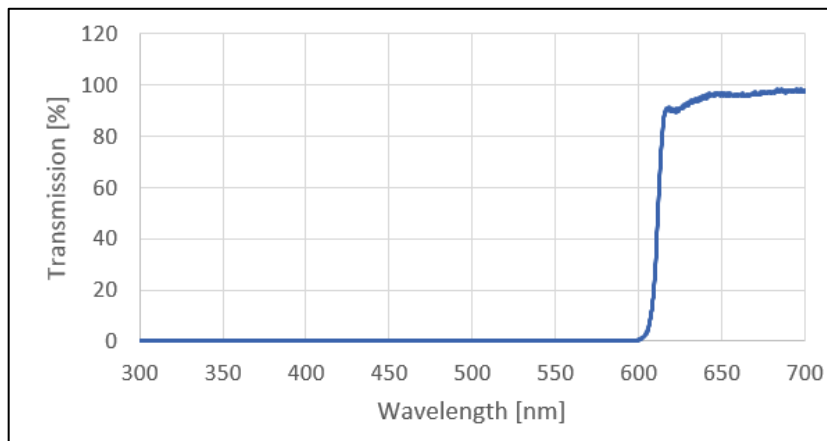


Figure 18 : Spectre de transmission du filtre **Rouge NB**

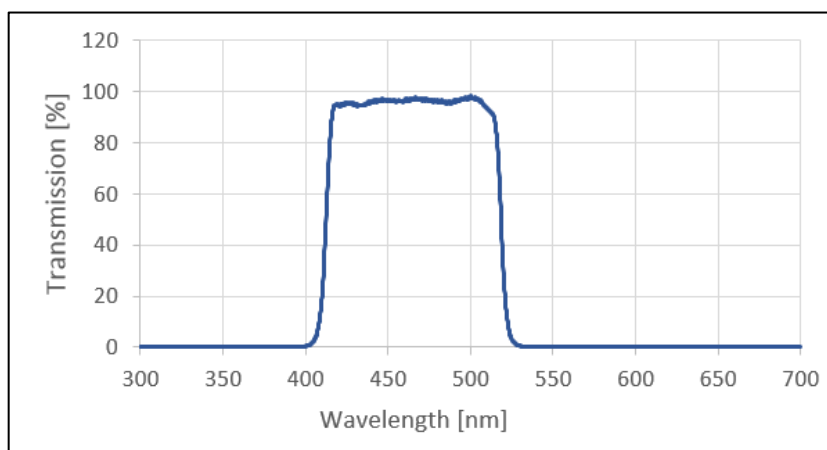


Figure 19 : Spectre de transmission du filtre **Bleu2 NB**

2.5.7 Port de cuvette (configurations M de l'Infinite)

Les configurations M de l'Infinite peuvent être équipées en option d'un port de connexion de cuvette pour les mesures d'absorbance.

Pour des mesures d'absorbance avec le port de cuvette des configurations M de l'Infinite, un trajet optique similaire au trajet optique pour l'excitation de fluorescence est utilisé.

Le système d'absorbance se compose de :

- source lumineuse
- monochromateur d'excitation
- module de mesure d'absorbance dans la cuvette
- module d'absorbance dans la microplaque

Les optiques de type condenseur concentrent la lumière à travers les filtres d'excitation, puis sur la fente d'entrée du monochromateur d'excitation. Un faisceau de fibres guide ensuite la lumière du monochromateur d'excitation vers l'optique d'absorbance dans la cuvette, qui focalise la lumière à travers la cuvette. Le module de mesure d'absorbance dans la cuvette est situé juste après le port de cuvette. Une photodiode au silicium mesure la lumière transmise à travers l'échantillon. Avant une mesure de la cuvette, une mesure de référence par rapport à l'air est réalisée avec le port de cuvette sorti du faisceau lumineux.

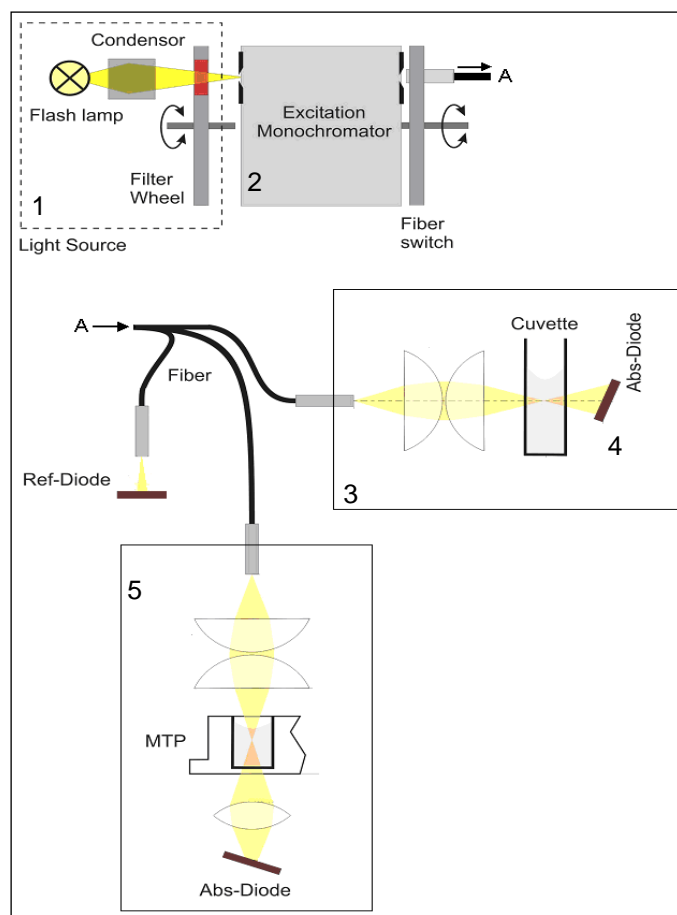


Figure 20 : Système optique du module d'absorbance des configurations M de l'Infinite incluant le port de cuvette. La figure illustre également le trajet lumineux du module d'absorbance dans la microplaque (5).

Pour plus de détails sur la source lumineuse (1) et le monochromateur d'excitation (2), veuillez vous reporter au chapitre 2.4.1 Fluorescence/A) Intensité de fluorescence (FI).



Note

Le port de cuvette est une option des configurations M de l'Infinite uniquement. Cette option n'est pas disponible pour les configurations F de l'Infinite. Avec les configurations F de l'Infinite, des cuvettes peuvent être mesurées à l'aide de l'adaptateur de cuvette Tecan placé sur le transport de plaque.

Optique d'absorbance dans la cuvette

Un faisceau de fibres guide la lumière du monochromateur d'excitation vers l'optique d'absorbance dans la cuvette.

Cette optique se compose d'une paire de lentilles qui focalisent le faisceau lumineux dans la cuvette.

Au niveau du spot focal, le diamètre du spot du faisceau lumineux d'absorbance est de 1,9 mm.

Détection d'absorbance dans la cuvette

Une photodiode au silicium est utilisée pour la mesure de la lumière transmise. Elle est sensible à une vaste gamme de longueurs d'onde. La photodiode convient parfaitement pour les niveaux de luminosité des mesures d'absorbance inférieures à 4 DO. Les valeurs de mesure supérieures à 4 DO sont marquées comme **OVER** (TROP PLEIN) dans la feuille de résultats.

Types de cuvette

Le port de cuvette est compatible avec les cuvettes suivantes :

Type de cuvette	Largeur x Profondeur	Hauteur maximum (couvercle inclus)	Volume de remplissage	Exemple
Cuvettes standard	12,5 x 12,5 mm	55 mm	2 ml	Hellma 110 QS, 10 mm*
Cuvettes semi-macro	12,5 x 12,5 mm	55 mm	1 ml	Hellma 108-QS, 10 mm*
Micro-cuvettes	12,5 x 12,5 mm	55 mm	0,5 ml	Hellma 104.002 QS, 10 mm*
Ultra-micro cuvettes	12,5 x 12,5 mm	55 mm	100 µl	Hellma 105.202, 10 mm*

Les cuvettes avec une fenêtre de mesure < 2 mm (diamètre) ne peuvent pas être utilisées.



PRECAUTION

TOUJOURS UTILISER UN VOLUME DE REMPLISSAGE VALIDE. S'ASSURER QUE LE NIVEAU DE LIQUIDE DANS LA CUVETTE DEPASSE 20 MM (HAUTEUR). SINON, LE TRAJET LUMINEUX DANS LA CUVETTE RISQUE DE NE PAS ETRE ENTIEREMENT REMPLI DE LIQUIDE, CE QUI PEUT ENTRAINER DES RESULTATS DE MESURE ERRONES.



PRECAUTION

LE PORT DE CUVETTE DES CONFIGURATIONS M DE L'INFINITE NE PEUT PAS ETRE UTILISE POUR DES CUVETTES AVEC UNE FENETRE DE MESURE < 2 MM (DIAMETRE) ET UNE HAUTEUR AU CENTRE INFÉRIEURE A 15 MM.

*Hellma GmbH & Co. KG, Allemagne ; www.hellma-worldwide.com

Insertion de la cuvette

Le support de cuvette est fixé fermement au porte-cuvette et permet de rentrer et de sortir la cuvette. Le porte-cuvette fait partie intégrante de l'instrument et ne peut pas être retiré.

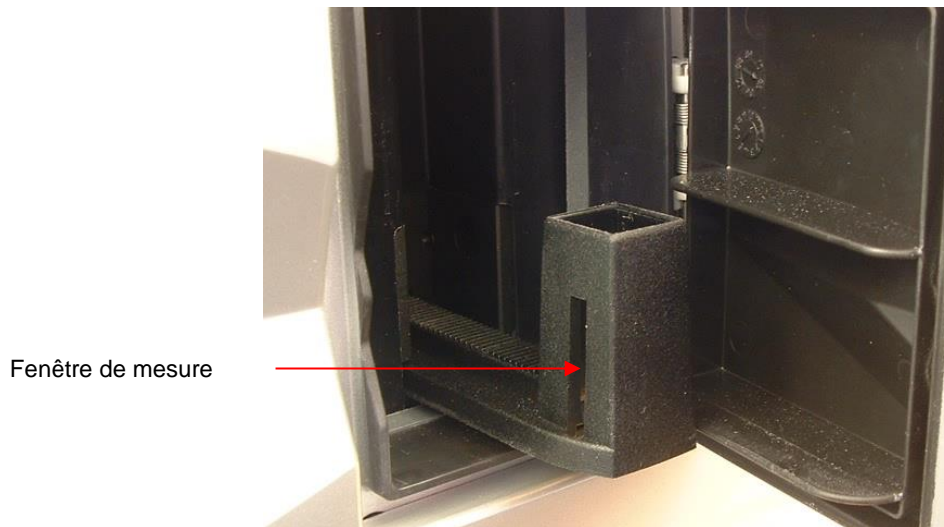


Figure 21 : Port de cuvette pour les configurations M de l'Infinite

La cuvette doit être insérée de sorte que la fenêtre de mesure de la cuvette corresponde à la fenêtre de mesure du support de cuvette :

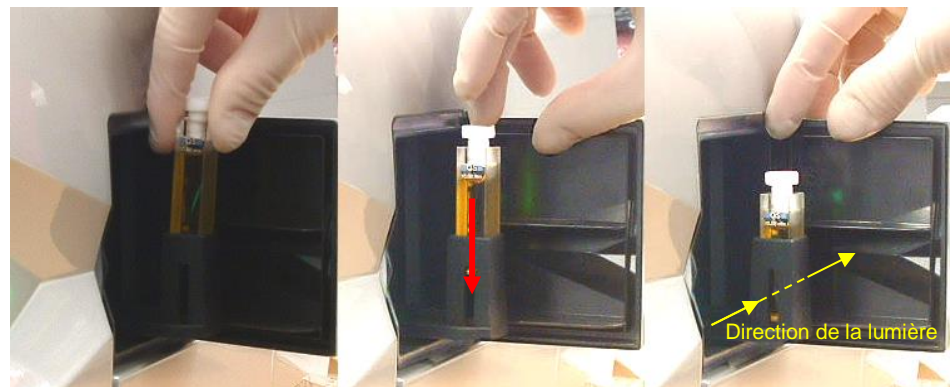


Figure 22 : Comment insérer la cuvette dans le support de cuvette

3. Installation

3.1 Déballage et inspection

L'emballage livré comprend les articles suivants :

- CÂBLE USB 2.0 A/B 1,8 m noir avec douille en ferrite
- Support de stockage du logiciel pour les configurations F/M de l'Infinite
- Rapport de qualité OOB
- Verrouillage de transport (monté)
- Notice d'utilisation
- Protocole de test final

L'emballage des configurations F de l'Infinite inclut en plus les articles suivants :

- Boîte des accessoires
- Bagues de rétention de filtre (8)
- Outil de montage de filtre
- Pincés en plastique
- Porte-filtres

L'emballage du module d'injecteur pour 1 injecteur inclut les articles suivants :

- Porte-flacon
- Bécher pour l'amorçage
- Flacon de 125 ml
- Injecteur factice (monté)
- Collecteur de rejets
- Flacon de 15 ml

Le second injecteur est livré avec les articles suivants :

- Porte-flacon
- Bécher pour l'amorçage
- Collecteur de rejets
- Flacon de 15 ml



PRECAUTION

LE LECTEUR INFINITE A ETE TESTE AVEC LE CABLE USB FOURNI. SI UN AUTRE CABLE USB EST UTILISE, TECAN AUSTRIA NE PEUT PAS GARANTIR LES PERFORMANCES OPTIMALES DE L'INSTRUMENT.

3.1.1 Procédure de déballage

1. Vérifier visuellement que la boîte n'est pas endommagée avant de l'ouvrir.
Déclarer immédiatement tout dommage.
2. Choisir un emplacement plat, horizontal, sans vibrations, éloigné de la lumière directe du soleil et à l'abri de la poussière, des solvants et des vapeurs d'acide. Prévoir au moins 10 cm entre l'arrière de l'instrument et le mur ou tout autre équipement. S'assurer que le porte-plaque ne puisse pas être heurté accidentellement lors de sa sortie. S'assurer que l'interrupteur principal et le câble principal sont accessibles à tout moment et ne sont obstrués en aucune façon.
3. Placer le carton à l'endroit et l'ouvrir.

4. Sortir l'instrument du carton et le placer à l'endroit choisi. Soulever l'instrument avec précaution et le tenir des deux côtés.
5. Procéder à une inspection visuelle de l'instrument, à la recherche de pièces desserrées, tordues ou cassées.
Déclarer immédiatement tout dommage.
6. Comparer le numéro de série marqué sur le panneau arrière de l'instrument avec le numéro de série du bordereau d'expédition.
Déclarer immédiatement toute différence.
7. Vérifier que les accessoires de l'instrument correspondent à la liste accompagnant l'emballage.
8. Conserver les emballages et les verrouillages de transport (voir section suivante) pour pouvoir les réutiliser lors de futurs transports.



AVERTISSEMENT

LE LECTEUR INFINITE ENTIEREMENT EQUIPE EST UN INSTRUMENT DE PRECISION QUI PESE ENVIRON 16 KG.



PRECAUTION

LA CHARGE MAXIMALE ADMISSIBLE DU COUVERCLE DU LECTEUR INFINITE EST DE 16 KG. CEPENDANT, LA CHARGE DOIT ETRE DISTRIBUEE UNIFORMEMENT SUR TOUTE LA SURFACE DU COUVERCLE.



PRECAUTION

LA CHARGE MAXIMALE ADMISSIBLE POUR LE TRANSPORT DE PLAQUE EST DE 100 G. UNE SURCHARGE DU PORTE-PLAQUE PEUT ENDOMMAGER L'INSTRUMENT ET NECESSITER UNE INTERVENTION DE REPARATION.



PRECAUTION

PREVOIR AU MOINS 10 CM ENTRE L'ARRIERE DE L'INSTRUMENT ET LE MUR OU TOUT AUTRE EQUIPEMENT.



PRECAUTION

L'INSTRUMENT DOIT ETRE INSTALLE A UN EMPLACEMENT ELOIGNE DE LA LUMIERE DIRECTE DU SOLEIL. UN ECLAIRAGE > 500 LUX PEUT AVOIR UNE INFLUENCE NEGATIVE SUR LES MESURES DE LUMINESCENCE.

3.2 Retrait des verrouillages de transport



PRECAUTION

RETIRER LE VERROUILLAGE DE TRANSPORT AVANT DE METTRE L'INSTRUMENT EN SERVICE.

L'instrument est fourni avec le porte-plaque verrouillé en place pour éviter qu'il ne soit endommagé. Avant de pouvoir utiliser l'instrument, le verrouillage de transport doit être retiré en suivant la procédure suivante :

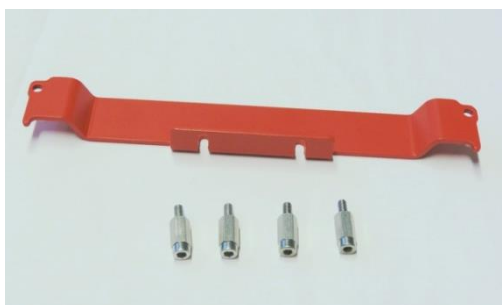
1. S'assurer que l'instrument est débranché de l'alimentation principale.
2. Ouvrir le battant du compartiment du porte-plaque.
3. Retirer les vis et sortir le porte-plaque à la main.



4. Retirer les vis du verrouillage de transport.



5. Retirer le verrouillage de transport du porte-plaque.



6. Les verrouillages de transport doivent être conservés pour pouvoir les réutiliser lors de futurs transports.



PRECAUTION

CONSERVER LES EMBALLAGES ET LES VERROUILLAGES DE TRANSPORT POUR POUVOIR LES REUTILISER LORS DE FUTURS TRANSPORTS. LE LECTEUR INFINITE DOIT ETRE RENVOYE UNIQUEMENT DANS SON EMBALLAGE D'ORIGINE ET AVEC LES VERROUILLAGES DE TRANSPORT INSTALLEES.

3.3 Transport et stockage

3.3.1 Transport

Le lecteur Infinite doit être renvoyé dans son emballage d'origine et avec les verrouillages de transport installés. Avant d'expédier l'instrument, il doit être soigneusement désinfecté (voir 7.4 Désinfection de l'instrument).

3.3.2 Stockage

Avant de stocker l'instrument, les injecteurs doivent être rincés en appliquant une procédure de lavage (voir 4.10.1 Amorçage et lavage du lecteur Infinite). Choisir un emplacement plat, horizontal, sans vibrations, éloigné de la lumière directe du soleil et à l'abri de la poussière, des solvants et des vapeurs d'acide.

Spécifications de stockage

Température	-20 °C à +60 °C	(-4 °F à +140 °F)
Humidité relative	< 80 % sans condensation	

3.4 Caractéristiques d'alimentation nécessaires

L'instrument est auto-ajustable et par conséquent, il n'est pas nécessaire d'effectuer des modifications de la plage de tension. Vérifier les spécifications de tension sur le panneau arrière de l'instrument et s'assurer que la tension fournie à l'instrument correspond à cette spécification.

La plage de tension est de 100-120/220-240 V.

Si la tension est incorrecte, veuillez contacter votre distributeur.



PRECAUTION

NE PAS UTILISER L'INSTRUMENT SI LE REGLAGE DE LA TENSION EST INCORRECT. SI L'INSTRUMENT EST ALLUME ALORS QU'IL EST CONNECTE A UN VOLTAGE INCORRECT, IL SERA ENDOMMAGE.



AVERTISSEMENT

SI LES INSTRUCTIONS FOURNIES DANS CE DOCUMENT NE SONT PAS CORRECTEMENT SUIVIES, L'INSTRUMENT PEUT ETRE ENDOMMAGE OU LA PROCEDURE NE SERA PAS CORRECTEMENT ACCOMPLIE ; DES LORS, LA SECURITE DE L'INSTRUMENT N'EST PAS GARANTIE.

3.5 Mise sous tension de l'instrument



PRECAUTION

AVANT LA PREMIERE MISE SOUS TENSION DE L'INSTRUMENT APRES L'INSTALLATION, IL DOIT ETRE LAISSE AU REPOS PENDANT AU MOINS 3 HEURES DE FAÇON QU'IL N'Y AIT PAS DE RISQUE DE CONDENSATION POUVANT CAUSER UN COURT-CIRCUIT.

1. Vérifier que l'interrupteur général sur le panneau arrière de l'instrument est en position OFF (éteint).
2. Brancher l'ordinateur à l'instrument avec le câble d'interface USB fourni.
3. Insérer le câble d'alimentation dans la prise secteur (avec connexion à la terre) sur le panneau arrière de l'instrument.
4. Tous les instruments connectés doivent être approuvés et certifiés IEC 60950-1 Sécurité du matériel informatique, ou normes locales équivalentes.
5. Mettre l'instrument en marche en utilisant l'interrupteur principal sur le panneau arrière de l'instrument.



PRECAUTION

LE LECTEUR INFINITE A ETE TESTE AVEC LE CABLE USB FOURNI. SI UN AUTRE CABLE USB EST UTILISE, TECAN AUSTRIA NE PEUT PAS GARANTIR LES PERFORMANCES OPTIMALES DE L'INSTRUMENT.



PRECAUTION

NE PAS REMPLACER LES CORDONS DETACHABLES DE L'ALIMENTATION PRINCIPALE PAR DES CORDONS DONT LES CARACTERISTIQUES SONT INAPPROPRIEES.

4. Utilisation de l'instrument

4.1 Introduction

Le lecteur Infinite est utilisé à l'aide d'une commande logicielle sur ordinateur. Le logiciel **i-control** ou **Magellan** peut être utilisé comme interface utilisateur. Pour plus de détails, voir la notice d'utilisation du logiciel correspondant. Cette brève introduction vise à apporter une compréhension générale des paramètres et du fonctionnement de l'instrument. Des suggestions vous expliquent comment optimiser les paramètres de l'instrument pour vos applications.

Tous les efforts possibles ont été faits pour garantir que l'instrument fonctionne correctement même si les paramètres par défaut ne sont pas adaptés à une application en particulier – avec les exceptions notables suivantes :



PRECAUTION

**LORSQU'UNE MICROPLAQUE EST PLACEE DANS LE PORTE-PLAQUE, TOUJOURS S'ASSURER QUE LE FICHER DE DEFINITION DE PLAQUE CORRECT (HAUTEUR DE PLAQUE) A ETE SELECTIONNE DANS LE LOGICIEL AVANT TOUTE ACTION.
LA HAUTEUR DE PLAQUE MAXIMALE EST DE 23 MM (COUVERCLE INCLUS).**



PRECAUTION

AVANT DE COMMENCER LES MESURES, S'ASSURER QUE LA POSITION A1 DE LA MICROPLAQUE EST INSEREE CORRECTEMENT. LE PUIS A1 DE LA PLAQUE DOIT SE TROUVER EN HAUT A GAUCHE.



PRECAUTION

SI LE TRANSPORT DE PLAQUE EST EXCESSIVEMENT SALE, LE MECANISME A RESSORT RISQUE DE NE PAS FONCTIONNER CORRECTEMENT, ET PEUT ENTRAINER UN MAUVAIS POSITIONNEMENT. VEUILLEZ CONTACTER VOTRE CENTRE DE SERVICE LOCAL.



IMPORTANT

LORSQUE VOUS UTILISEZ LE LECTEUR INFINITE, RESPECTEZ TOUJOURS LES DIRECTIVES BPL.



PRECAUTION

LE LECTEUR INFINITE EST EQUIPE D'UN VENTILATEUR AU DOS DE L'INSTRUMENT, QUI ASPIRE DE L'AIR. LE FILTRE A AIR DOIT ETRE CONTROLE TOUTES LES 4 SEMAINES ET ETRE REMPLACE LORSQU'IL EST SALE. LE FILTRE A AIR DOIT ETRE REMPLACE TOUS LES 6 MOIS.

4.2 Fonctionnalités générales

Le lecteur Infinite présente un comportement général et des options qui sont indépendants d'une technique de mesure sélectionnée en particulier.

4.2.1 Démarrage de l'instrument

Avant d'allumer l'instrument, vérifier si le câble d'interface USB est raccordé.

Mise sous tension de l'instrument

Lorsque l'instrument est mis sous tension, aucune séquence d'initialisation n'est exécutée.

Connexion à l'instrument

Lorsque le logiciel se connecte à l'instrument, une communication est établie entre l'instrument et l'interface utilisateur.

Les étapes suivantes sont réalisées :

- Les roues porte-filtres OS sont initialisées (configurations M uniquement).
- La roue porte-filtres de luminescence est initialisée.
- Le transport Z de l'optique de luminescence est initialisé.
- Le transport de plaque est initialisé.
(Le transport de plaque n'est pas sorti automatiquement.)
- Les versions actuelles du micrologiciel et du logiciel sont affichées.
- L'instrument est prêt à être utilisé.

4.3 Options générales

Les options suivantes peuvent être sélectionnées indépendamment de la technique de mesure choisie.



Note

Pour maintenir la température à un niveau constant et permettre une uniformité sur l'ensemble de la plaque, cette dernière doit être placée en position d'incubation.

Si la fonction de chauffage est utilisée pendant l'agitation, la température peut varier légèrement.

Contrôle de la température

Certains essais requièrent une température de fonctionnement exacte. Le lecteur Infinite peut définir une température spécifique dans un intervalle spécifié, assurer une uniformité sur l'ensemble de la plaque et maintenir la température constante au-dessus de la température ambiante. Les ventilateurs de refroidissement principaux arrêtent la ventilation.

Le chauffage de la chambre de mesure prend un certain temps. Vérifier l'écran de contrôle de la température. Si elle n'a pas été incubée à l'extérieur, la microplaque doit être laissée pendant la durée nécessaire à l'équilibrage avant de lancer la mesure.

Intervalle de températures : 5 °C au-dessus de la température ambiante jusqu'à 42 °C.

Mesures cinétiques

Le logiciel i-control permet de mesurer une plaque à plusieurs reprises à des intervalles de temps équidistants. Le signal de fluorescence peut diminuer sensiblement sur une longue période de temps, en particulier lorsque de faibles volumes sont utilisés. Selon la quantité d'évaporation, le ménisque se décale vers une position inférieure, ce qui donne lieu à des conditions de mise au point légèrement floues. Généralement, les puits dans le coin s'évaporent plus rapidement, puis ceux sur les bords de la microplaque. Lors de la mesure de la fluorescence, une réduction du signal peut également entraîner un photoblanchiment.

Agitation de la microplaque

Le lecteur Infinite fournit deux modes d'agitation : linéaire et orbital. L'amplitude d'agitation s'étend de 1 à 6 mm, par pas de 0,5 mm. La fréquence est une fonction de l'amplitude. La durée d'agitation est réglable dans la plage 1 à 1 000 secondes.

Multi-étiquetage

Le logiciel **i-control** offre une capacité de multi-étiquetage. Jusqu'à quatre ensembles de paramètres de l'instrument peuvent être édités. Les mesures de plaque correspondantes sont exécutées dans l'ordre sélectionné. Par exemple, lorsque plus d'un marqueur fluorescent est utilisé, différentes combinaisons de filtres peuvent être sélectionnées. Une mesure multi-étiquetage peut être définie en utilisant une bande de plaque avec/sans une **partie de la plaque** (bande) et jusqu'à 10 bandes de mesure (longueur d'onde fixe d'absorbance, scan d'absorbance, intensité de fluorescence, scan d'intensité de fluorescence, luminescence).

4.4 Définition des porte-filtres (configurations F de l'Infinite)

4.4.1 À propos des filtres

Filtres de fluorescence

Les filtres optiques (de type passe-bande) dans un porte-filtres sont spécialement conçus pour les mesures de fluorescence. Le rejet spectral et la bande passante des filtres de fluorescence sont optimisés pour obtenir une excellente sensibilité.

Contactez TECAN en cas d'utilisation de filtres différents de ceux fournis sur les porte-filtres livrés.

Filtres d'absorbance

Les filtres passe-bande, qui sont couramment utilisés dans les lecteurs de microplaque pour les mesures d'absorbance, présentent généralement une bande passante de 10 nm. Par conséquent, il n'est pas recommandé d'utiliser des filtres de fluorescence pour des mesures d'absorbance car la bande passante (FWHM) est généralement supérieure à 10 nm. Cela pourrait causer une nette erreur de valeur ou des valeurs de DO faibles lors de la mesure de colorants à pics étroits.

4.4.2 Porte-filtres et orientation du filtre

Porte-filtres

Le porte-filtres des configurations F de l'Infinite se compose d'une partie excitation et d'une partie émission. Le porte-filtres permet à l'utilisateur de travailler avec quatre paires de filtres d'excitation/émission indépendantes, qui peuvent être définies sur les positions 1 à 4. Les informations concernant les filtres insérés sont enregistrées sur la micropuce intégrée.

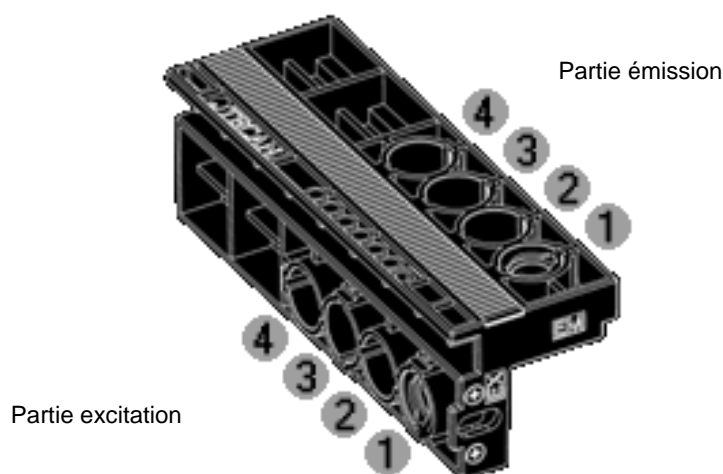


Figure 23 : Configurations F de l'Infinite : Porte-filtres

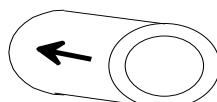
Types de filtres



PRECAUTION

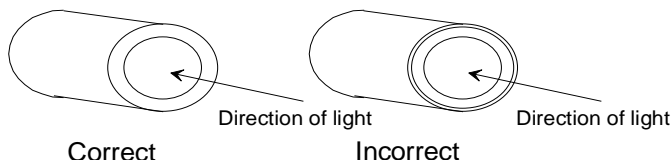
IL EXISTE DEUX TYPES DE FILTRES. IL EST IMPORTANT QUE LA LUMIERE TRAVERSE LES DEUX TYPES DE FILTRES DANS LA DIRECTION CORRECTE. AVANT D'INSERER UN NOUVEAU FILTRE, EXAMINER ATTENTIVEMENT LE FILTRE ET LA DIRECTION DE LA LUMIERE A TRAVERS LE PORTE-FILTRES.

Pour les filtres avec une flèche sur le côté :



la lumière doit suivre la direction de la flèche.

Pour les filtres sans flèche sur le côté :



L'extrémité du filtre avec la lèvre métallique doit être orientée à l'opposé de la source lumineuse.

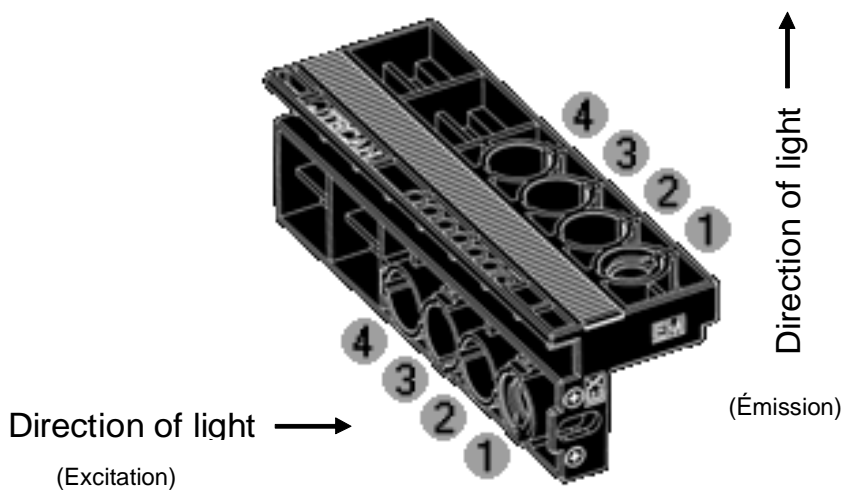


Figure 24 : Configurations F de l'Infinite : Porte-filtres - Direction de la lumière

Position des filtres de polarisation



Note

Les mesures de polarisation de fluorescence sur l'Infinite F Plex nécessitent deux filtres d'excitation et d'émission identiques installés ensemble avec les polariseurs soit sur les positions 1 et 2, soit sur les positions 3 et 4.

Le porte-filtres de l'Infinite F Plex peut être équipé d'un maximum de deux paires de filtres de polarisation de fluorescence différentes, car chaque mesure de polarisation de fluorescence nécessite deux filtres d'excitation et d'émission identiques, qui sont installés ensemble avec les polariseurs soit sur les positions 1 et 2, soit sur les positions 3 et 4.

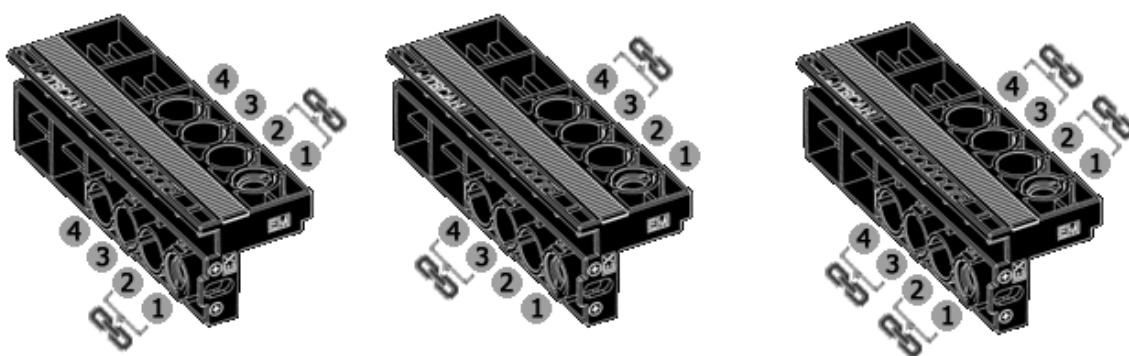


Figure 25 : Infinite F Plex : Porte-filtres avec les positions indiquées pour les filtres de polarisation de fluorescence et les polariseurs.

4.4.3 Installation d'un filtre personnalisé

Lors de l'installation d'un nouveau filtre, utiliser l'outil de montage de filtre inclus dans la boîte des accessoires. Pour installer les polariseurs, utiliser les pinces souples (en plastique).

Retrait d'un filtre

Aligner l'outil de montage de filtre avec l'encoche de la bague de rétention. Tourner l'outil et retirer la bague de rétention en la tirant hors du logement du filtre.



Bague de rétention

Le filtre sort de son logement lorsque le porte-filtres est retourné. Ne pas utiliser l'outil de montage de filtre pour retirer les filtres.

Montage d'un filtre personnalisé

Un nouveau filtre (et un polariseur) doivent être insérés dans le porte-filtres comme indiqué ci-dessous.



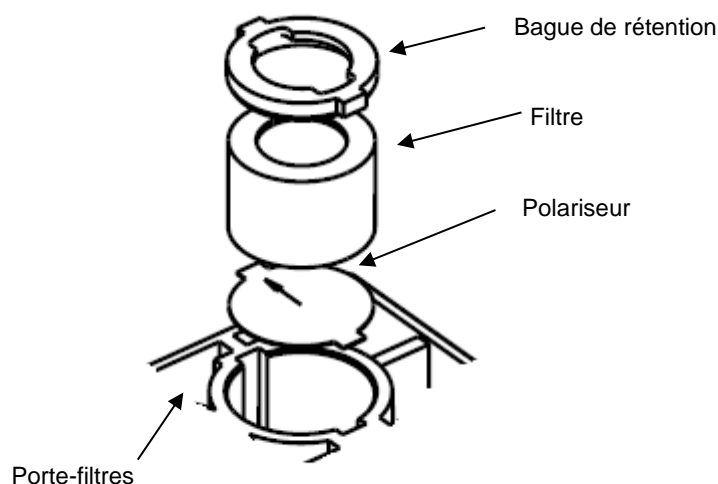
Note

S'assurer que les filtres sont insérés correctement (voir Types de filtres). Pour garantir un bon fonctionnement, ne pas réutiliser les bagues de rétention plus de 5 fois.



PRECAUTION

VEILLER A INSERER LES POLARISEURS ET LES FILTRES DANS LE PORTE-FILTRES DANS LE CADRE D'UNE POLARISATION DE FLUORESCENCE.



PRECAUTION

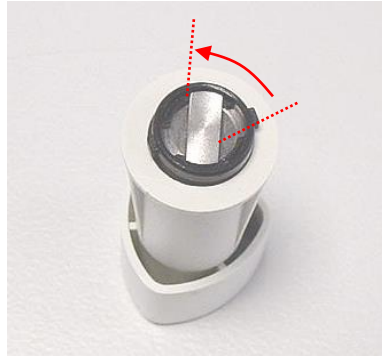
LES FILTRES SONT DES COMPOSANTS OPTIQUES DE PRECISION QUI NE DOIVENT ETRE MANIPULES QUE PAR LEURS BORDS ET NE DOIVENT PAS ETRE RAYES OU RANGES FACE VERS LE BAS DANS UN TIROIR. UNE FOIS INSTALLES DANS LES PORTE-FILTRES, LES FILTRES SONT RELATIVEMENT BIEN PROTEGES, MAIS ILS DOIVENT ETRE MANIPULES ET ENTREPOSES AVEC PRECAUTION.

Pour installer un filtre personnalisé, procéder comme suit :

Si nécessaire, installer avec précaution un polariseur à la moitié du côté excitation et du côté émission du porte-filtres à l'aide de pinces, en veillant à ne pas le rayer ni à le salir avec des empreintes de doigt.

Insérer le filtre avec précaution dans l'ouverture, en veillant à ne pas rayer le filtre, ni à mettre d'empreintes de doigt dessus.

Placer la bague de rétention à l'extrémité de l'outil de montage de filtre et la tourner de manière à ce qu'elle ne puisse pas glisser.



Outil de montage de filtre avec bague de rétention

En utilisant l'outil de montage, placer la bague de rétention dans le logement de filtre et appuyer fermement pour la mettre en place.

Faire tourner l'outil jusqu'à ce que l'encoche de la bague de rétention soit alignée avec l'extrémité de l'outil de montage de filtre, puis retirer l'outil.

Si des ouvertures restent inutilisées après l'insertion des filtres requis (par exemple la partie émission d'un filtre d'absorbance), des filtres factices doivent être montés dans les trous non remplis.

4.4.4 Définition des filtres



PRECAUTION

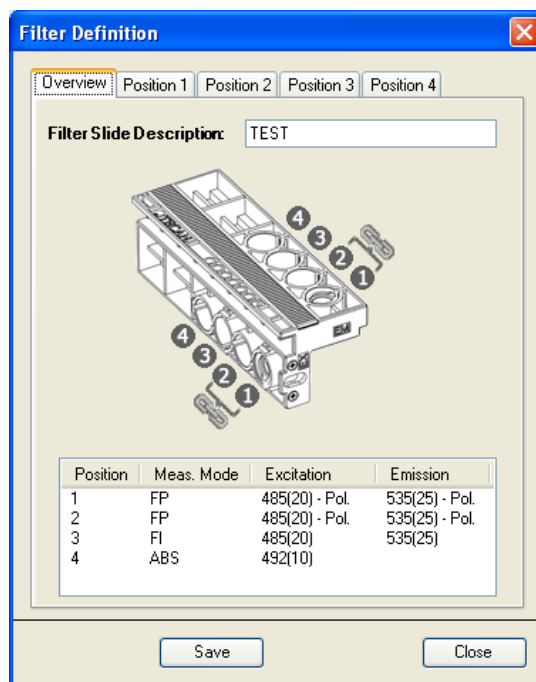
TOUTE MODIFICATION DES FILTRES DANS LE PORTE-FILTRES DOIT ETRE EFFECTUEE PAR DU PERSONNEL FORME ! L'INSTRUMENT EST EN MESURE DE RECONNAITRE LES PORTE-FILTRES PREDEFINIS ET VOUS NE DEVEZ PAS TENTER DE MODIFIER LES VALEURS DE FILTRES. CEPENDANT, SI LES FILTRES DANS LE PORTE-FILTRES ONT ETE REMPLACES (PAR UN INGENIEUR DE MAINTENANCE) OU SI UN NOUVEAU PORTE-FILTRES PERSONNALISE NON DEFINI DOIT ETRE UTILISE, LES PORTE-FILTRES DOIVENT ETRE DEFINIS.*

***SELON LA FREQUENCE D'UTILISATION ET LES CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES, DES FILTRES OPTIQUES PEUVENT SE DETERIORER AVEC LE TEMPS ET PRESENTER PAR CONSEQUENT UNE DUREE DE VIE LIMITEE.**

Définissez un filtre (une paire de filtres) comme suit :

Sélectionnez Filter Definitions (Définitions du filtre) dans le menu Settings (Paramètres).

La boîte de dialogue suivante apparaît, affichant un onglet Overview (Présentation) et quatre onglets de définition de filtre :



Overview (Présentation) : Fournit à l'utilisateur la définition actuelle du porte-filtres.

Filter Slide Description (Description du porte-filtres) : Saisissez la description du porte-filtres, ou bien la description du porte-filtres sera générée automatiquement.



Note

Aucun caractère spécial (espace vide, ?, \$, %, ,, /, etc.) n'est autorisé pour la description du porte-filtres, excepté _.



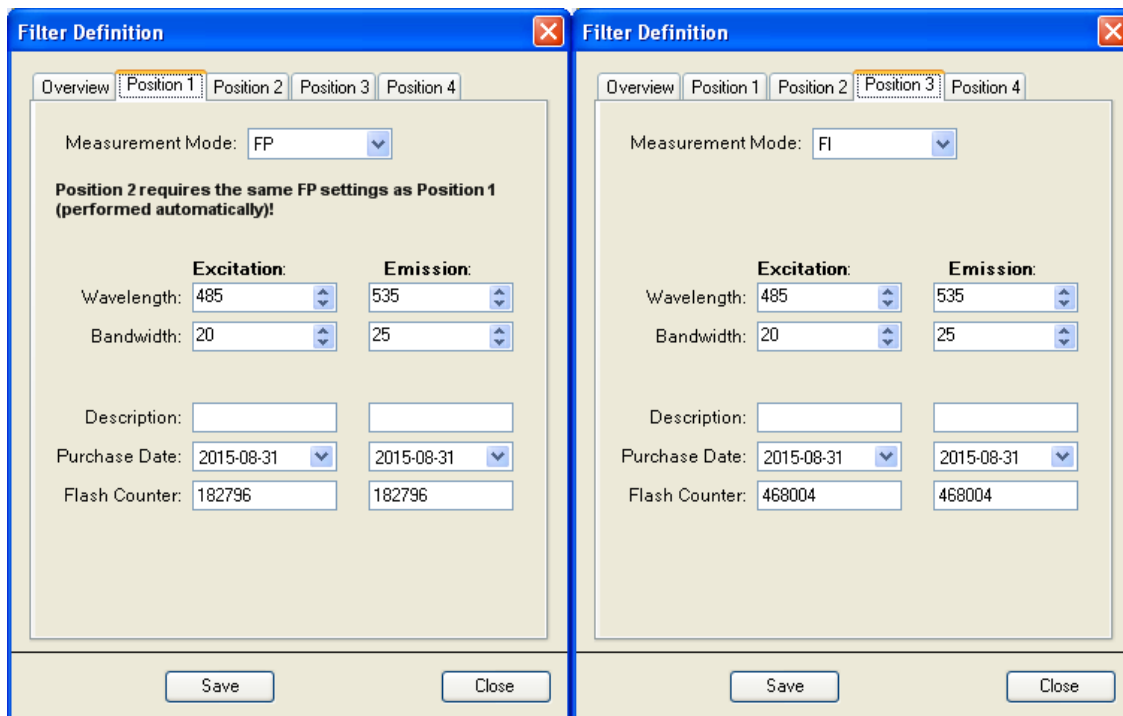
PRECAUTION

LA DESCRIPTION DU PORTE-FILTRES FAIT PARTIE DE LA VALEUR CLE DU FACTEUR G. EN CAS DE SAISIE MANUELLE, EVITER D'UTILISER LA MEME DESCRIPTION POUR LES DIFFERENTS PORTE-FILTRES.

Position 1 - 4 : Éditeur de définition de filtre pour les filtres (paires de filtres) aux positions 1, 2, 3 et 4.

Sélectionnez la position de filtre appropriée et saisissez la nouvelle longueur d'onde, la bande passante et le mode de mesure pour chaque nouveau filtre :

Measurement Mode (Mode de mesure) : effectuez une sélection dans la liste déroulante : **FI** pour intensité de fluorescence, **ABS** pour absorbance, **FP** pour polarisation de fluorescence et **Empty** (Vide) pour les positions sans filtre



The image shows two side-by-side screenshots of the 'Filter Definition' dialog box. The left window has 'Position 1' selected and 'Measurement Mode' set to 'FP'. A note states: 'Position 2 requires the same FP settings as Position 1 (performed automatically)!'. The right window has 'Position 3' selected and 'Measurement Mode' set to 'FI'. Both windows have the same layout with fields for Wavelength, Bandwidth, Excitation, Emission, Description, Purchase Date, and Flash Counter. Buttons for 'Save' and 'Close' are at the bottom of each window.



Note

Le mode de polarisation de fluorescence à la Position 1 nécessite les mêmes réglages du filtre qu'à la Position 2 et inversement. Le mode de polarisation de fluorescence à la Position 3 nécessite les mêmes réglages du filtre qu'à la Position 4 et inversement. Ceci est réalisé automatiquement.



PRECAUTION

VERIFIER QUE LE PORTE-FILTRES CONTIENT DES POLARISEURS AVEC LES FILTRES DEFINIS POUR LA POLARISATION DE FLUORESCENCE.

Wavelength (Longueur d'onde) : Saisissez la longueur d'onde du filtre dans la plage suivante :

- (1) Mode d'intensité de fluorescence : 230 à 850 nm (Excitation) et 280 à 850 nm (Émission)
- (2) Polarisation de fluorescence : 300 à 850 nm (Excitation) et 330 à 850 nm (Émission)
- (3) Mode d'absorbance : 230 à 1 000 nm

Bande passante : Saisissez la bande passante (nm) du filtre

(4) Acceptez les nouvelles valeurs du filtre en cliquant sur **Save** (Enregistrer). Une fois que la boîte de dialogue de définition de filtre est fermée, le système est prêt à collecter des données avec les nouveaux filtres.

Description : Ce champ peut être utilisé pour insérer les remarques de l'utilisateur concernant le filtre, par exemple le nom du filtre, l'application, etc.



Note

Aucun caractère spécial (espace vide, ?, \$, %, ,, /, etc.) n'est autorisé pour la description du porte-filtres, excepté _.

Purchase Date (Date d'achat) : Cette option permet à l'utilisateur de saisir la date d'achat ou d'installation du filtre

Flash Counter (Compteur de flash) : Le compteur de flash surveille le nombre de flashes à travers un filtre. Le nombre fourni par le compteur de flash n'indique à l'utilisateur que des informations supplémentaires sur le filtre utilisé. Le nombre fourni par le compteur de flash est enregistré avec d'autres informations concernant le filtre sur la micropuce du porte-filtres.

Si vous remplacez un filtre, ces informations sont perdues sauf si le dernier nombre fourni par le compteur de flash est documenté manuellement par l'utilisateur.

Pour un tout nouveau filtre, définissez le compteur sur 0. Pour un filtre utilisé auparavant, saisissez le dernier nombre de flash relevé s'il est disponible.

**PRECAUTION**

IL EST RECOMMANDE DE NOTER A LA MAIN LE DERNIER NOMBRE DU COMPTEUR DE FLASH AVANT DE REMPLACER LE FILTRE ; SINON, CETTE INFORMATION SERA PERDUE.

**PRECAUTION**

NE PAS INSERER DE PORTE-FILTRES SI L'INSTRUMENT N'EST PAS SOUS TENSION ET CONNECTE.

4.5 Optimisation des mesures de fluorescence

Les résultats de mesure de fluorescence peuvent être optimisés d'une part en réglant les paramètres de l'instrument, et d'autre part, en sélectionnant le matériel approprié.

4.5.1 Paramètres de l'instrument

Réglages du gain

Le système de détection de la fluorescence des configurations de l'Infinite utilise une conversion analogique/numérique (ADC : Analog Digital Converter, convertisseur analogique-numérique) du signal du PMT. Le réglage du gain contrôle l'amplification du PMT lors de la conversion de la lumière de fluorescence en courant électrique. L'ADC a besoin d'une gamme d'entrée adaptée du courant du PMT pour d'une part fournir un rapport signal/bruit (S/N) adéquat, et d'autre part garantir la linéarité. Par conséquent, le gain doit être réglé pour que les puits de la microplaque dont la concentration est maximale fournissent les lectures les plus précises possibles. Ensuite, les lectures des puits de la microplaque dont la concentration est plus faible sont isolées du fond – aussi loin que le niveau de bruit du fond le permet.



Note

Si *OVER* (Trop plein) est affecté à un puits concerné, vous pouvez réduire manuellement le gain, ou sélectionner une option de gain automatique (voir la notice d'utilisation du logiciel).

Propriétés du PMT

Le gain pour l'intensité de fluorescence peut être sélectionné sur une plage de 1 à 255. Les performances du PMT dépendent de la tension d'alimentation. Les PMT du lecteur Infinite sont spécifiés pour une tension de 300 à 1 250 V. La relation entre les réglages du gain du lecteur Infinite et la tension d'alimentation est décrite dans l'Équation 1. Par conséquent, l'utilisation prévue du PMT du lecteur Infinite est spécifiée pour des réglages du gain de 60 à 255. Des réglages du gain inférieurs à 60 sont possibles, mais les performances du PMT ne sont pas spécifiées pour une tension d'alimentation < 300 V. Ainsi, Tecan décline toute responsabilité pour les résultats de mesure du lecteur Infinite lorsque des réglages du gain inférieurs à 60 sont utilisés.

$$\text{Équation 1 : } U = \frac{\text{Gain}}{255} * 1250 \text{ V}$$

Où U est la tension, Gain est le réglage du gain sélectionné, 255 est le gain maximal possible et 1 250 V est la tension d'alimentation maximum du PMT.

Exemple :

Un gain de 100 correspond à une tension d'alimentation de 490 V :

$$\text{Équation 2 : } U = \frac{100}{255} * 1250 = 490 \text{ V}$$

4.5.2 Optimisation Z (Mesures de FI du haut avec uniquement des configurations M de l'Infinite)

Une fonction utile des configurations **M de l'Infinite** est la procédure d'optimisation Z. L'optimisation Z n'est disponible que pour les mesures de FI du haut avec les configurations M de l'Infinite. Pour un essai en particulier, cette procédure doit être réalisée une fois pour déterminer la distance de travail optimale entre l'échantillon dans la plaque et l'optique de fluorescence.

La position Z peut être déterminée comme suit :

(1) **Manual** (Manuel) :

Lorsque l'option **manual** (manuel) est utilisée, une valeur numérique de la position Z peut être saisie dans la bande de mesure. La position Z manuelle par défaut est de 20 000 µm.

(2) **Calculated from well** (Calculé à partir du puits) :

Lorsque l'option **calculated from well** (calculé à partir du puits) est utilisée, les configurations **M de l'Infinite** identifient automatiquement la position Z du signal maximum dans le puits sélectionné pour des mesures ultérieures.

(3) **Same as** (Identique à) pour des mesures multi-étiquetage :

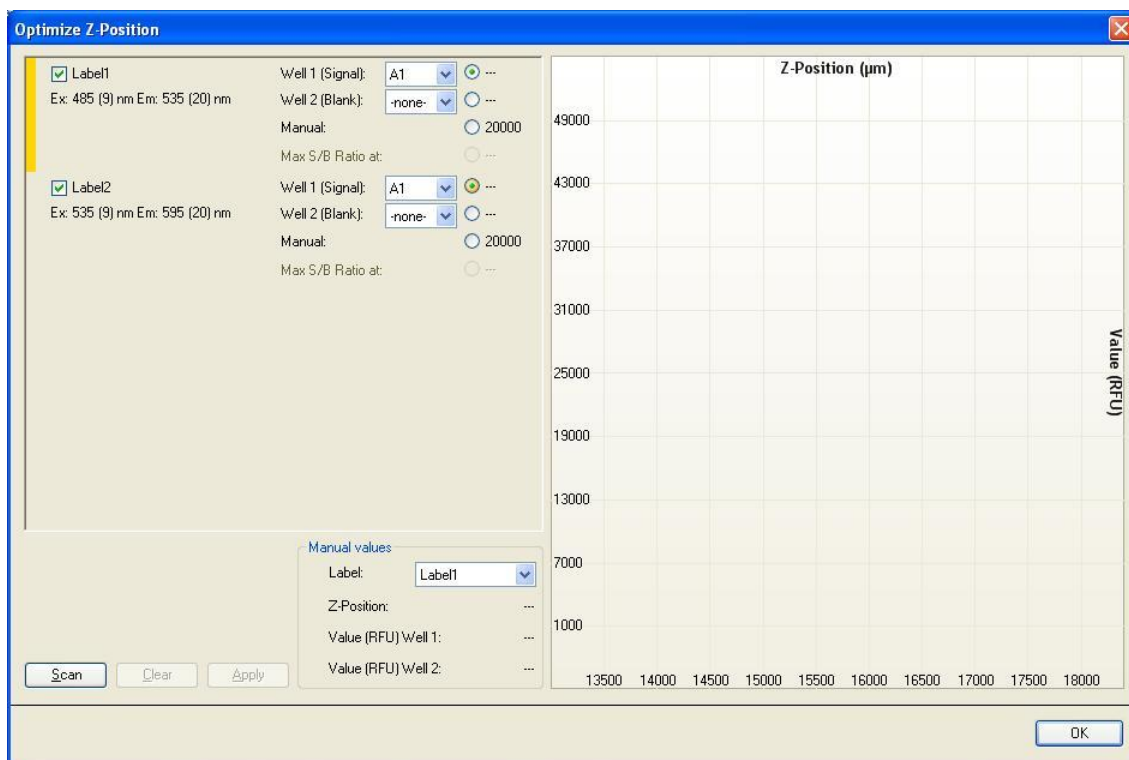
Lorsque l'option **same as** (Identique à) est utilisée, les configurations **M de l'Infinite** utilisent automatiquement la même position Z que pour une étiquette précédemment définie.

Par exemple, dans un script avec 2 étiquettes de FI Haut nommées Étiquette 1 et Étiquette 2, la position Z de l'Étiquette 1 peut également être utilisée pour l'Étiquette 2 en sélectionnant l'option **Same as = Label 1** (Identique à = Étiquette 1).

(4) **Instrument → Z-Position** (Instrument → Position Z) :

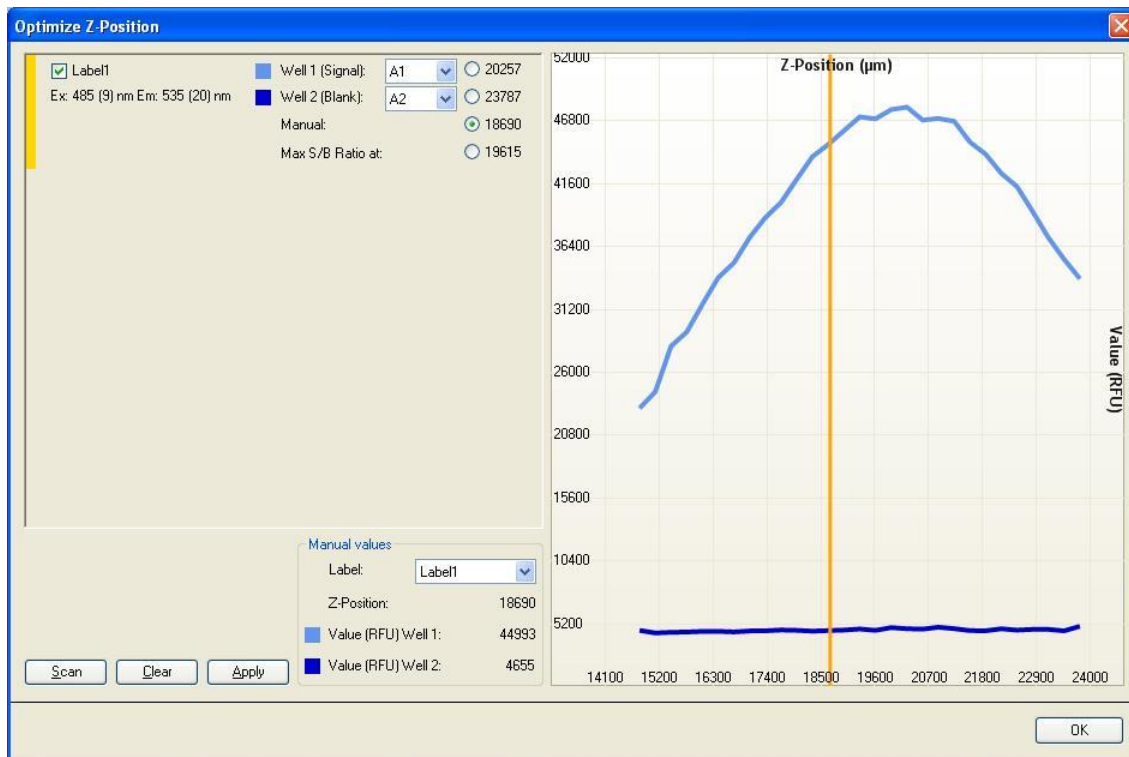
Lorsque la fonction **Z-position** (Position Z) est utilisée dans le menu Instrument, l'utilisateur peut déterminer la position Z appropriée à partir d'un tracé graphique qui indique le ou les puits utilisés pour la position Z. La valeur sélectionnée est appliquée aux mesures ultérieures.

Sélectionnez **Z-Position** (Position Z) dans le menu **Instrument** :

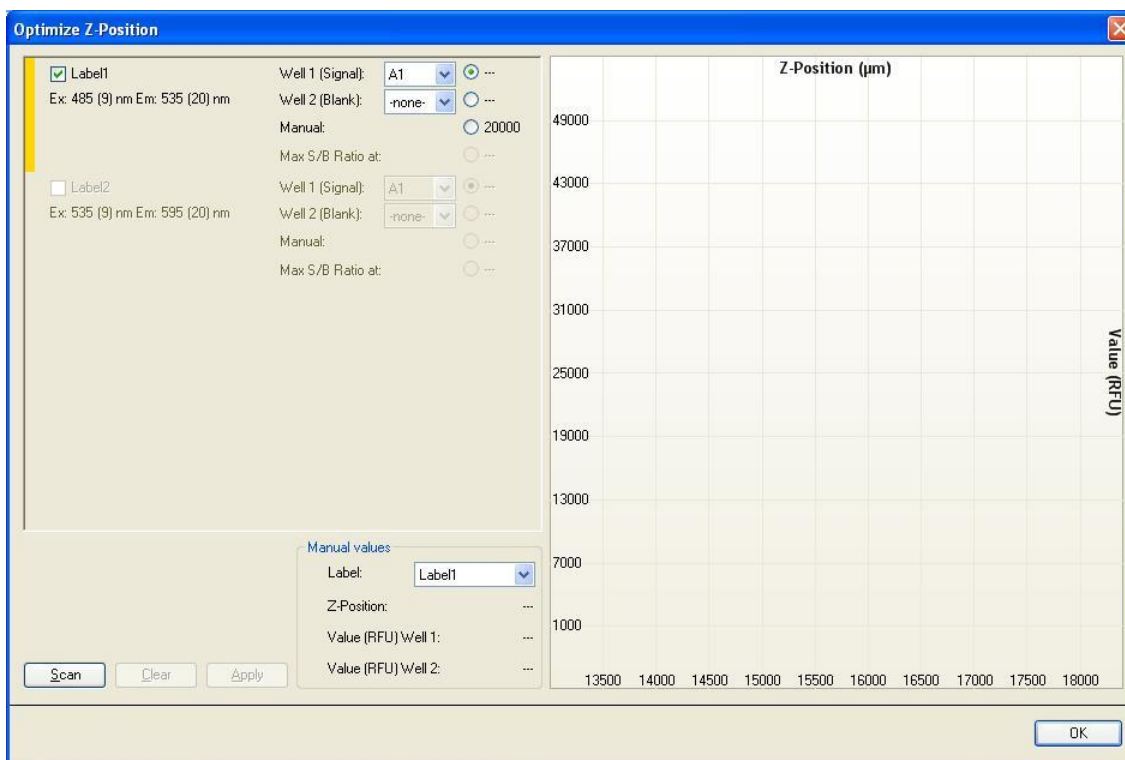


Sélectionnez la ou les étiquettes pour lesquelles l'optimisation de la position Z doit être réalisée. La position Z optimale peut être déterminée simultanément pour 4 étiquettes au maximum.

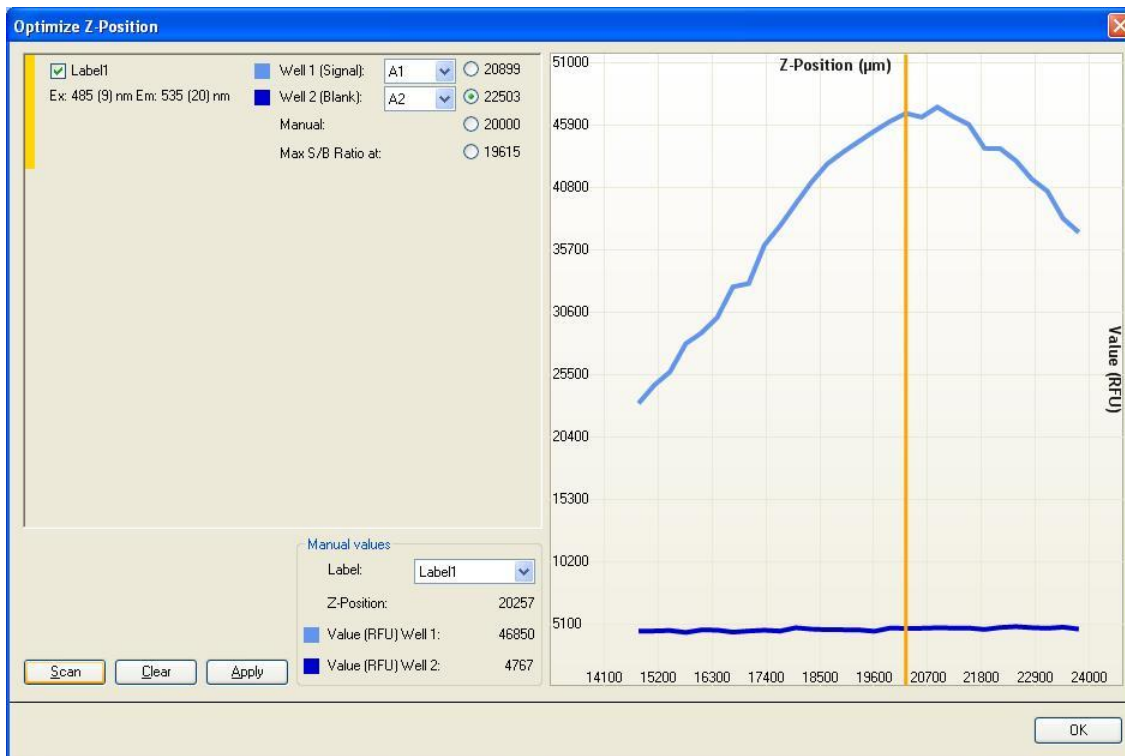
La sélection d'étiquette/le nombre d'étiquettes dépendent du script de mesure précédemment défini dans le logiciel i-control. De plus, si la position Z de l'une des étiquettes est définie comme **Same as** (Identique à), l'étiquette est affichée mais elle ne peut pas être sélectionnée pour l'optimisation Z :



Pour chaque étiquette sélectionnée, l'un des deux puits de la plage de plaque peut être utilisé pour l'optimisation de la position Z. Sélectionnez le ou les puits et cliquez sur **Scan** pour lancer l'optimisation Z :



L'option de position Z **Max S/B Ratio** (Rapport S/B max) nécessite la mesure de deux puits, le puits concerné rempli de fluorophore (signal) et l'autre rempli de tampon (témoin). Les deux puits sont scannés et la courbe de signaux ainsi que la courbe de témoin obtenues sont affichées sur le graphique. La position Z peut désormais être définie sur le rapport signal/témoin (S/B) maximal :

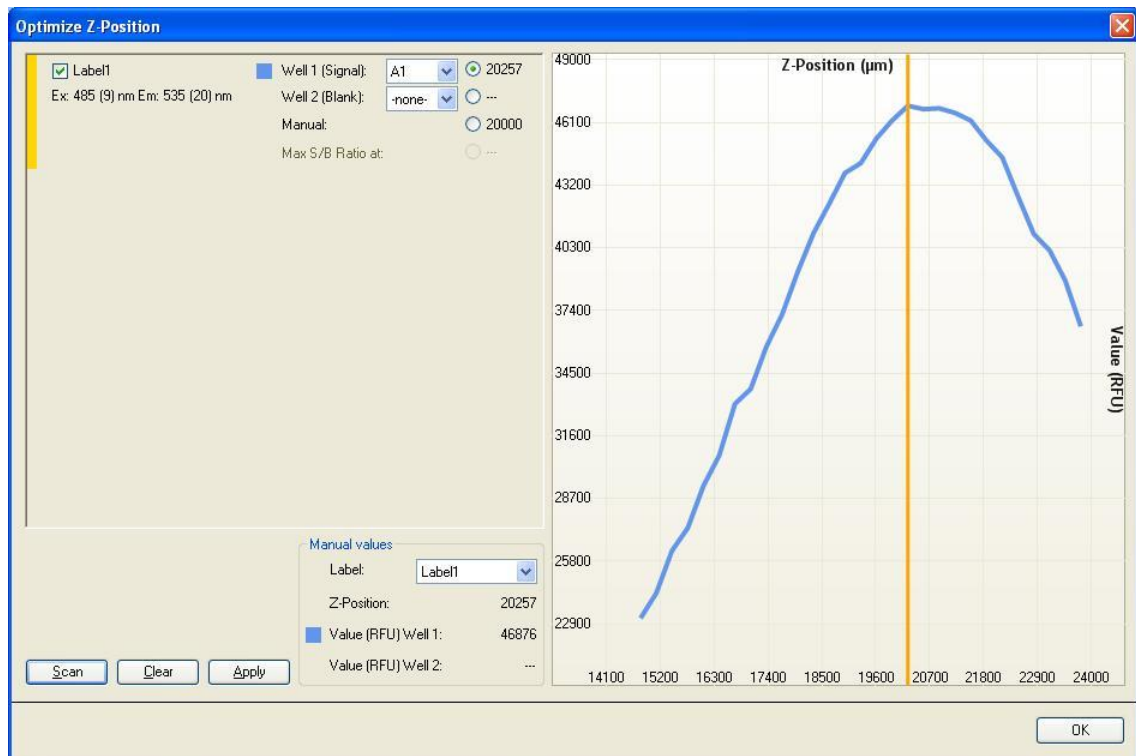




Note

Lorsque l'option Max S/B Ratio (Rapport S/B max) est utilisée, le puits d'échantillon est d'abord mesuré avec un gain optimal et la valeur de gain absolu identique est appliquée à la deuxième mesure avec le puits témoin. Par conséquent, les deux courbes de signaux et de témoin sont directement comparables.

La position Z pour chaque étiquette sélectionnée peut être définie manuellement. Dans la fenêtre graphique, la barre jaune verticale peut être déplacée dans la position Z souhaitée.



Cliquez sur **Apply** (Appliquer) pour appliquer automatiquement la position Z sélectionnée sur le script i-control et l'utiliser pour la mesure suivante.

Réglages du flash

Les mesures sur le champ avec 1 flash (lecture) par puits sont possibles pour tous les types de plaques ; cependant, la précision de mesure à de faibles niveaux de luminosité dépend du temps de lecture pendant la réception du signal de fluorescence.



Note

Augmenter le nombre de flashes (lectures) par puits jusqu'à ce que le bruit des puits TÉMOINS ne s'améliore plus, ou jusqu'à ce que le temps de mesure par puits ne soit plus acceptable.

Pour une fluorescence immédiate, il n'est pas utile d'augmenter le temps d'intégration par défaut, car le détecteur ne recevra plus de signal une fois que le flash aura disparu.

Paramètres de synchronisation pour la fluorescence résolue en temps

Pour la TRF, les paramètres d'intégration du signal doivent être ajustés en fonction de l'étiquette. Un retard décale le début du temps d'intégration du signal par rapport au flash précédent. Les paramètres de synchronisation de la TRF peuvent être définis en procédant comme suit :

Vous pouvez prendre comme point de départ la durée de vie de fluorescence de l'étiquette pour le temps d'intégration et le retard.

Réglage grossier : Avec un temps d'intégration fixe, réduisez le retard pour maximiser le rapport signal/fond (S/B).

Réglage précis : Avec un retard fixe, augmentez le retard et vérifiez si le S/B s'améliore.

Réglage précis facultatif : Avec l'un des deux paramètres de synchronisation fixe, vous pouvez faire varier l'autre paramètre et vérifier si le S/B s'améliore davantage.

Temps du repos

Avant de mesurer un puits, un temps du repos peut être défini. En raison du mouvement d'arrêt et de reprise du porte-plaque, le ménisque du liquide distribué peut encore vibrer tandis que le signal est intégré. Ceci peut entraîner des fluctuations des valeurs mesurées. L'effet a été observé dans des puits de plaques à 96 puits et des puits plus grands. Ceci est essentiel en particulier avec des mesures d'absorbance.

4.5.3 Mode rapport de FI

Mode rapport

Jusqu'à 4 étiquettes peuvent être mesurées par puits. Ce mode de mesure est appelé **mode rapport**. Veillez à ce qu'aucun calcul de **rapport** ne soit effectué après cette mesure. La feuille de résultats Excel indique les données brutes. Des calculs ultérieurs doivent être réalisés par l'utilisateur.

Temps de commutation de filtre (configurations F de l'Infinite)/ Temps de commutation de longueur d'onde (configurations M de l'Infinite)

Les configurations F de l'Infinite peuvent commuter entre deux filtres dans un délai de 250 ms si les étiquettes sélectionnées sont mesurées avec un gain identique. Sinon, le temps de commutation est de 400 ms. Dans ce cas, le niveau haute tension sur le PMT doit être modifié. La haute tension appliquée au PMT nécessite un certain temps pour se stabiliser.

Les configurations M de l'Infinite peuvent commuter entre deux longueurs d'onde dans un délai de 150 ms si les étiquettes sélectionnées sont mesurées avec un gain identique ou si aucun point de commutation optique (OS) n'est impliqué (voir le Tableau 1 : pour les points de commutation). Sinon, le temps de commutation est de 400 ms. Dans ce cas, le niveau haute tension sur le PMT doit être modifié. La haute tension appliquée au PMT nécessite un certain temps pour se stabiliser. La roue porte-filtres OS doit être déplacée.

	Longueur d'onde excitation	Longueur d'onde émission
Point de commutation OSF 1	316 nm	401 nm
Point de commutation OSF 2	386 nm	621 nm
Point de commutation OSF 3	561 nm	-

Tableau 1 : Points de commutation OSF (filtre optique) (configurations M de l'Infinite)

Exemple :

Fura-2: Cette application comporte une commutation de filtre/longueur d'onde entre 340 et 380 nm du côté excitation. L'émission est mesurée à environ 510 nm. La commutation de filtre/longueur d'onde d'excitation ne comprend pas de commutation OS, par conséquent la commutation est possible dans un délai de 150 ms sur une configuration M de l'Infinite et de 250 ms sur une configuration F de l'Infinite.

4.6 Mesures FP

4.6.1 Polarisation de fluorescence

La polarisation de fluorescence (FP, P) est définie par l'équation suivante :

$$P = \frac{(I_{\parallel} - I_{\perp})}{(I_{\parallel} + I_{\perp})}$$

Équation 3 :

où I_{\parallel} et I_{\perp} sont égales à l'intensité d'émission de la lumière polarisée parallèle et perpendiculaire au plan d'excitation, respectivement. La polarisation est une unité sans dimension, généralement exprimée en unités mP.

Pour démarrer une mesure FP, la bande de programme doit contenir une **Blank range** (Gamme de blanc) de la mesure valide et des paramètres **G-Factor** (Facteur G) valides.

4.6.2 Gamme du blanc de la mesure

La réduction du blanc de la mesure est effectuée automatiquement à chaque mesure de polarisation de fluorescence ; la valeur moyenne des puits témoins respectifs est soustraite de chaque valeur d'échantillon (voir 4.6.8).

Dans la boîte de groupe **Measurement** (Mesure), sélectionnez la **Blank range** (Gamme de blanc) en cliquant sur **Change** (Changer) puis en sélectionnant les puits remplis de blanc de mesure (échantillon).

4.6.3 Paramètres du facteur G

L'équation donnée pour le calcul de la polarisation de fluorescence suppose que la sensibilité du système de détection soit équivalente pour la lumière polarisée parallèle et perpendiculaire. Ce n'est généralement pas le cas et l'intensité parallèle ou l'intensité perpendiculaire doit être corrigée par le **Facteur G**. Le facteur G compense les différences dans les composants optiques entre la mesure parallèle et la mesure perpendiculaire.

Le facteur G est le facteur de correction qui peut être déterminé pour la longueur d'onde du fluorophore en mesurant un échantillon avec une valeur de polarisation connue. Un calibrage valide de l'instrument permettant d'obtenir un facteur G est une exigence importante pour chaque mesure de polarisation de fluorescence.



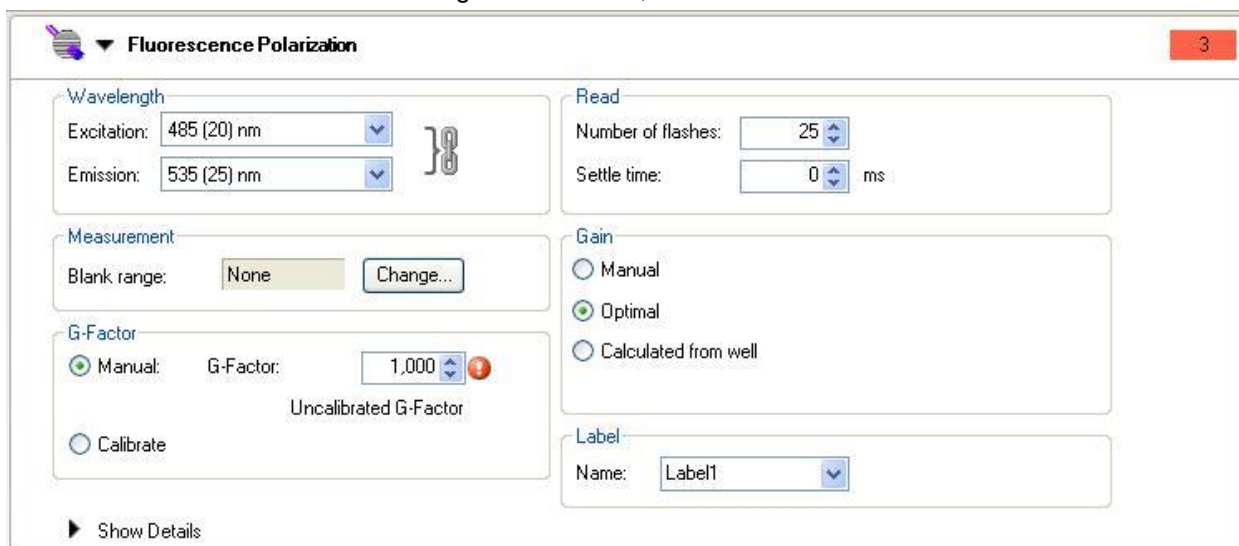
PRECAUTION

VERIFIER QUE LE PORTE-FILTRES CONTIENT DES POLARISEURS AVEC LES FILTRES DEFINIS POUR LA POLARISATION DE FLUORESCENCE. DES MESURES REALISEES SANS LES POLARISEURS ENTRAINENT UN FACTEUR G ET DES DONNEES DE MESURE ERRONES.

4.6.4 Mesure avec un facteur G non calibré

Si aucun facteur G calibré n'est disponible, la valeur par défaut de 1 est affichée et marquée comme **Uncalibrated G-Factor** (Facteur G non calibré). Afin d'activer la mesure, confirmez cette valeur ou sélectionnez-en une nouvelle en cliquant sur les flèches vers le haut ou le bas ou en saisissant une valeur dans le champ **G-Factor** (Facteur G).

Pour le calibrage du facteur G, voir 4.6.5.



Fluorescence Polarization 3

Wavelength
 Excitation: 485 (20) nm
 Emission: 535 (25) nm

Read
 Number of flashes: 25
 Settle time: 0 ms

Measurement
 Blank range: None Change...

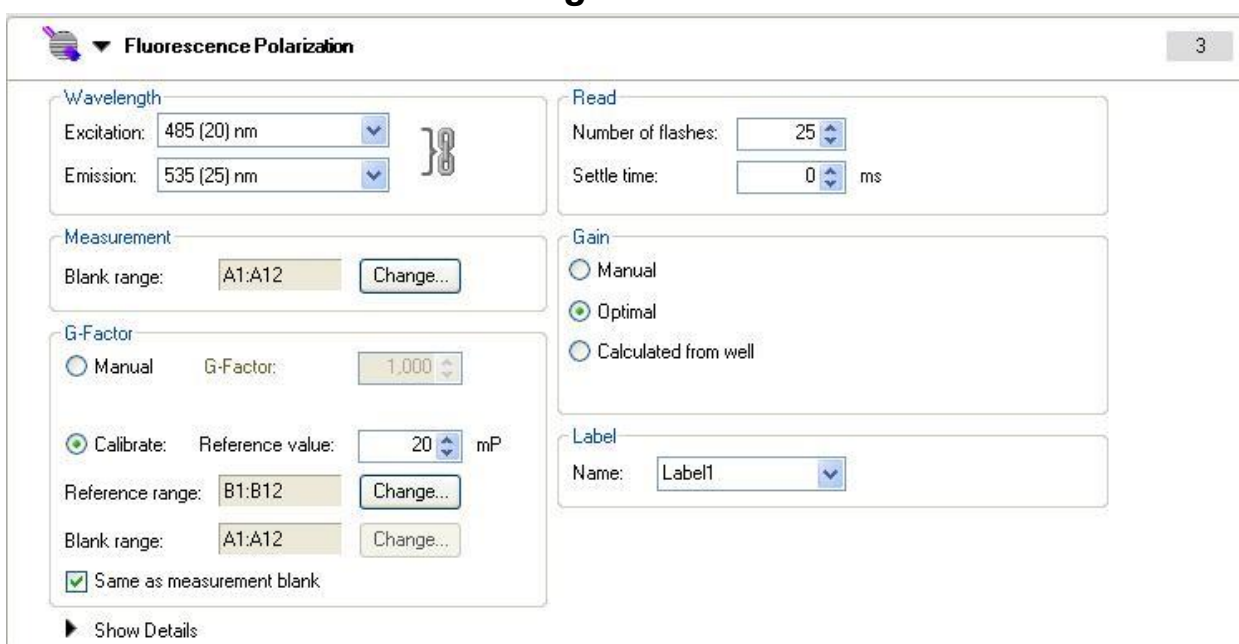
G-Factor
 Manual G-Factor: 1,000 ⚠
 Uncalibrated G-Factor
 Calibrate

Gain
 Manual
 Optimal
 Calculated from well

Label
 Name: Label1

Show Details

4.6.5 Mesure avec un calibrage simultané du facteur G



Fluorescence Polarization 3

Wavelength
 Excitation: 485 (20) nm
 Emission: 535 (25) nm

Read
 Number of flashes: 25
 Settle time: 0 ms

Measurement
 Blank range: A1:A12 Change...

G-Factor
 Manual G-Factor: 1,000
 Calibrate: Reference value: 20 mP
 Reference range: B1:B12 Change...
 Blank range: A1:A12 Change...
 Same as measurement blank

Gain
 Manual
 Optimal
 Calculated from well

Label
 Name: Label1

Show Details

Lorsque **Calibrate** (Calibrer) est sélectionné, le facteur G est déterminé pour les paramètres de la mesure actuelle et utilisé pour la mesure FP suivante. Afin de réaliser le calibrage du facteur G, veuillez définir :

Reference value (Valeur de référence) : sélectionnez une valeur de polarisation pour la référence utilisée, par exemple 20 mP pour une solution de fluorescéine à 1 nM dans 0,01 M de NaOH.

Reference range (Gamme de référence) : cliquez sur **Change** (Changer) et sélectionnez les puits remplis avec la référence.

Blank range (Gamme de blanc) : cliquez sur **Change** (Changer) et sélectionnez les puits remplis de témoin de référence. Sélectionnez **Same as measurement blank** (Identique à la mesure de blanc) si le témoin de référence est le même que le blanc de mesure.



Note

En remplissant plus d'un puits de références de polarisation et de témoins de référence, les valeurs moyennes seront calculées et par conséquent, le résultat du calibrage sera plus précis.

Stockage du facteur G

Le facteur G calculé est automatiquement enregistré sur le disque dur de l'ordinateur. Chaque entrée de facteur G correspond à une sélection de paire de filtres ainsi qu'à la description du porte-filtres. Il n'y a toujours qu'un seul facteur G disponible pour la combinaison de paire de filtres et la description du porte-filtres respectives, sauf si la même paire de filtres a été utilisée avec les différents porte-filtres et donc stockée avec les différentes descriptions du porte-filtres.



PRECAUTION

LA DESCRIPTION DU PORTE-FILTRES FAIT PARTIE DE LA VALEUR CLE DU FACTEUR G. ÉVITEZ D'UTILISER LA MEME DESCRIPTION DU PORTE-FILTRES POUR LES DIFFERENTS PORTE-FILTRES CAR CELA AFFECTERA L'IDENTIFICATION CORRECTE DU FACTEUR G.

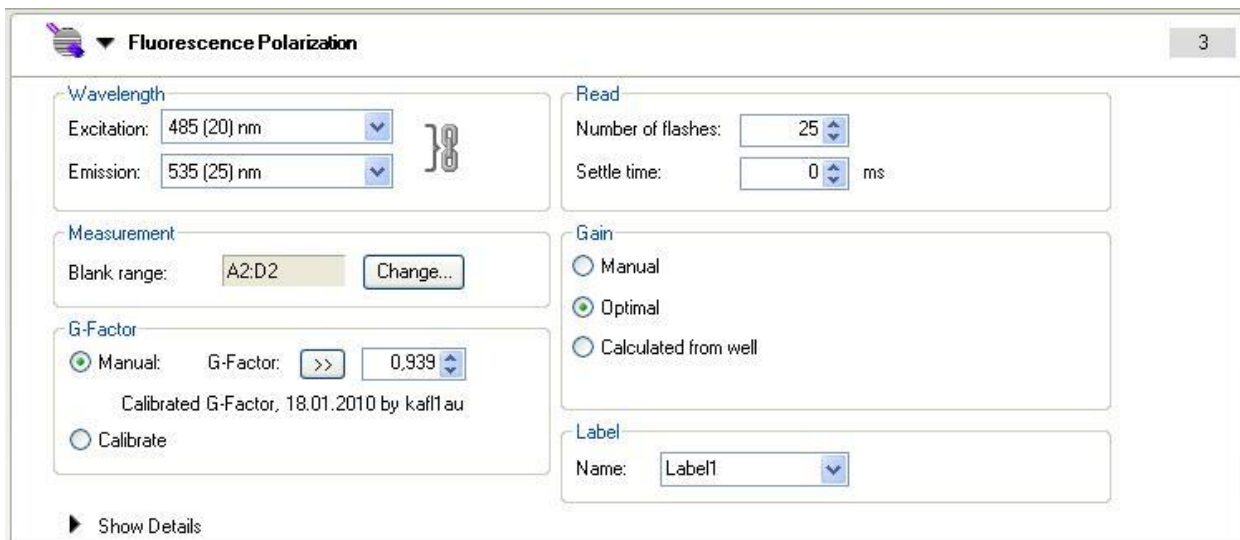
4.6.6 Mesure avec un facteur G calibré



Note

Une fois calibré, le facteur G est affiché et peut être utilisé immédiatement s'il correspond à la paire de longueurs d'onde Ex/Ém et à la description du porte-filtres.

Un facteur G calibré sera affiché automatiquement ou peut être chargé en cliquant sur le bouton >> uniquement s'il correspond à la paire de filtres de polarisation de fluorescence et à la description du porte-filtres sélectionnées.

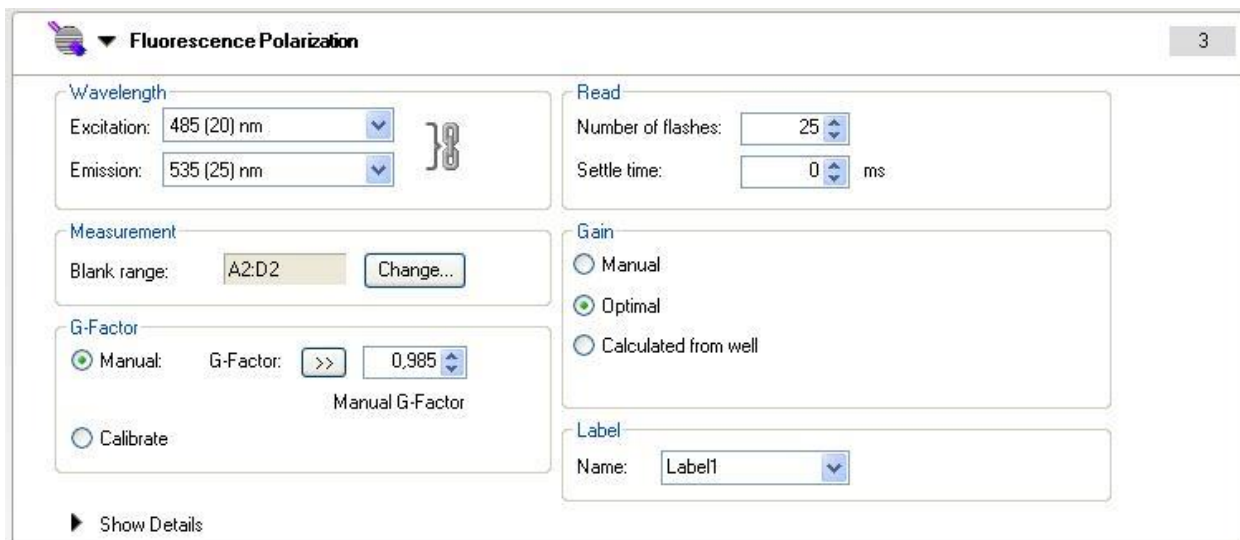


The screenshot shows the 'Fluorescence Polarization' control panel. Under the 'Wavelength' section, 'Excitation' is set to 485 (20) nm and 'Emission' to 535 (25) nm. The 'Read' section shows 'Number of flashes' at 25 and 'Settle time' at 0 ms. In the 'Measurement' section, 'Blank range' is A2:D2. The 'G-Factor' section has 'Manual' selected, with a 'G-Factor' value of 0,939. Below this, it reads 'Calibrated G-Factor, 18.01.2010 by kaff1 au'. The 'Gain' section has 'Optimal' selected. The 'Label' section shows 'Name' as Label1. A 'Show Details' button is at the bottom left.

Le facteur G calibré est marqué comme **Calibrated G-Factor** (Facteur G calibré) avec la date et la signature.

4.6.7 Mesure avec un facteur G manuel

Si le facteur G affiché ne correspond pas à la valeur calibrée (par exemple le facteur G a été modifié manuellement ou chargé avec une méthode), la valeur correspondante sera marquée comme **Manual G-Factor** (Facteur G manuel).



This screenshot is identical to the previous one, but the 'G-Factor' section now shows 'Manual' selected with a 'G-Factor' value of 0,985. Below the value, it reads 'Manual G-Factor'. The 'Calibrated G-Factor' text is no longer present.

Le facteur G calibré peut être restauré en cliquant sur le bouton >> à gauche du facteur G affiché.



Note
L'ajustement du facteur G à l'aide du bouton >> n'est possible que si un facteur G calibré est disponible pour la longueur d'onde correspondante.

4.6.8 Calcul des paramètres de polarisation de fluorescence

Facteur G :

$$G = \frac{(1 + P_{ref})(\overline{RFU}_{ref}^{cross} - \overline{RFU}_{buf}^{cross})}{(1 - P_{ref})(\overline{RFU}_{ref}^{par} - \overline{RFU}_{buf}^{par})}$$

P_{ref} ... Polarizationvalueofreference [P]
 \overline{RFU}_{ref} ... Averagedrelativefluorescenceunitsofreference
 \overline{RFU}_{buf} ... Averagedrelativefluorescenceunitsofbuffer

Réduction du blanc :

La valeur moyenne des puits témoins respectifs est soustraite de chaque valeur.

$$\Delta RFU^{par} = \begin{cases} \overline{RFU}_{ref}^{par} - \overline{RFU}_{buf}^{par} \\ \overline{RFU}_{buf}^{par} - \overline{RFU}_{buf}^{par} \\ \overline{RFU}_{smp}^{par} - \overline{RFU}_{blk}^{par} \\ \overline{RFU}_{blk}^{par} - \overline{RFU}_{blk}^{par} \end{cases} \text{ for each well}$$

$$\Delta RFU^{cross} = \begin{cases} \overline{RFU}_{ref}^{cross} - \overline{RFU}_{buf}^{cross} \\ \overline{RFU}_{buf}^{cross} - \overline{RFU}_{buf}^{cross} \\ \overline{RFU}_{smp}^{cross} - \overline{RFU}_{blk}^{cross} \\ \overline{RFU}_{blk}^{cross} - \overline{RFU}_{blk}^{cross} \end{cases} \text{ for each well}$$

Intensités :

Les intensités parallèles et perpendiculaires sont calculées à l'aide des formules suivantes :

$$I^{par} = G * \Delta RFU^{par}$$

$$I^{cross} = \Delta RFU^{cross}$$

Polarisation :

$$P = \frac{I^{par} - I^{cross}}{I^{par} + I^{cross}}$$

Anisotropie :

$$A = \frac{I^{par} - I^{cross}}{I^{par} + 2 * I^{cross}}$$

Intensité totale :

$$I_{tot} = I^{par} + 2 * I^{cross}$$

4.7 Optimisation des mesures d'absorbance

4.7.1 Paramètres de mesure

Réglages du flash

Les mesures sur le champ avec 1 flash (lecture) par puits sont possibles pour tous les types de plaques ; cependant, la précision de mesure à de faibles niveaux de luminosité dépend du temps de lecture pendant lequel un signal de fluorescence peut être reçu.



Note

Augmenter le nombre de flashes (lectures) par puits jusqu'à ce que le bruit des puits TÉMOINS ne s'améliore plus, ou jusqu'à ce que le temps de mesure par puits ne soit plus acceptable.

Temps du repos

Un temps du repos avant de mesurer un puits peut être défini (essentiel pour les mesures d'absorbance). En raison du mouvement d'arrêt et de reprise du porte-plaque, le ménisque du liquide distribué peut encore vibrer tandis que le signal est intégré. Ceci peut entraîner des fluctuations des valeurs mesurées. L'effet a été observé dans des puits de plaques à 96 puits et des puits plus grands.

4.7.2 Mode rapport d'absorbance

Mode rapport

À l'aide de l'onglet **Standard** dans le logiciel i-control, jusqu'à 4 étiquettes peuvent être mesurées par puits. Ce mode de mesure est appelé **mode rapport**. Veillez à ce qu'aucun calcul de **rapport** ne soit effectué après cette mesure. La feuille de résultats Excel indique les données brutes. Des calculs ultérieurs doivent être réalisés par l'utilisateur.

À l'aide de l'onglet **Applications** dans le logiciel i-control avec la plaque NanoQuant Plate, les données brutes pour **Quantifying Nucleic Acids** (Quantification des acides nucléiques) et **Labeling Efficiency** (Efficacité de l'étiquetage) sont toutes automatiquement calculées pour la concentration ou le calcul du rapport par le logiciel Excel. Les valeurs peuvent être utilisées pour un calcul ultérieur si vous le souhaitez.

Temps de commutation de longueur d'onde (configurations M de l'Infinite)/filtre (configurations F de l'Infinite)

Les configurations F de l'Infinite peuvent commuter entre deux filtres adjacents dans un délai de 250 ms.

Les configurations M de l'Infinite peuvent commuter entre deux longueurs d'onde dans un délai de 150 ms.

Pour les conditions, voir 4.5.3 Mode rapport de FI.

4.8 Lectures multiples par puits

Le logiciel i-control permet des lectures multiples par puits (MRW) à réaliser en mode absorbance, fluorescence haut et fluorescence fond.

Les fonctions Multiple Reads per Well (Lectures multiples par puits) peuvent être activées sur la bande de programme d'intensité d'absorbance ou de fluorescence en cochant la case **Multiple Reads per Well** (Lectures multiples par puits) (voir la Figure 26 ci-dessous).

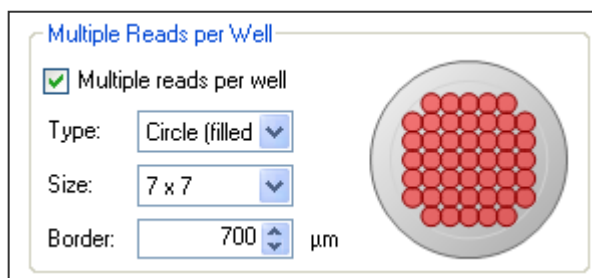


Figure 26 : Lectures multiples par puits



Note

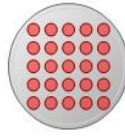
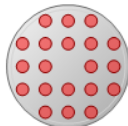
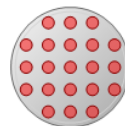
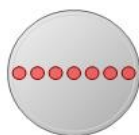
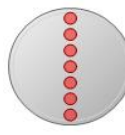
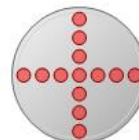
La fonction Multiple Reads per Well (Lectures multiples par puits) n'est disponible que pour les modes de lecture de longueur d'onde fixe absorbance, intensité de fluorescence du haut et intensité de fluorescence du fond. La fonction n'est pas disponible pour les mesures de scan.

4.8.1 Type MRW

Les types MRW définissent le modèle selon lequel la mesure sera réalisée. Le logiciel permet de sélectionner sept types MRW différents :

- Carré
- Carré (plein)
- Cercle
- Cercle (plein)
- Ligne X
- Ligne Y
- Ligne XY

Exemples de modèle :

Carré :**Carré (plein) :****Cercle :****Cercle (plein) :****Ligne X :****Ligne Y :****Ligne XY :**

4.8.2 Taille MRW

La taille MRW détermine le nombre de points à mesurer dans un puits. Selon le type de microplaque et l'instrument, les configurations F de l'Infinite ou les configurations M de l'Infinite, la **taille** peut être définie entre 1 x 1 et 15 x 15 points maximum. Le diamètre des points de mesure individuels correspond au diamètre théorique calculé du faisceau lumineux au niveau du point focal (voir le Tableau 2).

Mode de mesure	Configurations M de l'Infinite	Configurations F de l'Infinite
Intensité de fluorescence Haut	3 mm	2 mm
Intensité de fluorescence Fond	2 mm	2 mm
Absorbance (optique de la microplaque)	0,7 mm	0,5 mm

Tableau 2 : Diamètre théorique calculé du faisceau lumineux au niveau du point focal.

Par conséquent, le type MRW affiché dans le logiciel n'est qu'un aperçu schématique du modèle de mesure. Lors de la mesure d'échantillons réels, le modèle peut varier et le recouvrement des points de mesure individuels peut être légèrement différent du modèle affiché. Par conséquent, il est recommandé d'optimiser les paramètres Multiple Reads per Well (Lectures multiples par puits) pour chaque nouvelle application.

4.8.3 Bordure MRW

En plus de **Size** (Taille) et **Type**, une fonction **Border** (Bordure) permet à l'utilisateur de sélectionner une certaine distance entre le faisceau lumineux et la paroi du puits (distance en μm). Comme cela a déjà été mentionné au chapitre 4.8.2, le logiciel n'affiche qu'un aperçu schématique du modèle de mesure. La bordure est calculée à partir du diamètre théorique du faisceau de l'instrument. Cependant, lors de la mesure d'échantillons liquides, le diamètre du faisceau lumineux est influencé par le type et la quantité de liquide dans un puits. De plus, le type de plaque (par exemple le matériau du fond de la microplaque) influence également les caractéristiques du faisceau lumineux. C'est pourquoi la bordure théorique affichée dans le logiciel peut ne pas correspondre à la bordure réelle lors de la mesure d'un échantillon réel. Par conséquent, il est fortement recommandé d'optimiser les paramètres **Multiple Reads per Well** (Lectures multiples par puits) pour chaque nouvelle application. S'assurer que la bordure sélectionnée garantit une distance suffisante entre le faisceau lumineux et la paroi du puits.



PRECAUTION

TOUTES LES SPECIFICATIONS D'INTENSITE D'ABSORBANCE ET DE FLUORESCENCE FOURNIES DANS CE DOCUMENT NE SONT VALIDES QUE POUR DES POINTS DE MESURE INDIVIDUELS (UN POINT DE MESURE PAR PUIITS). LORSQUE L'OPTION MULTIPLE READS PER WELL (LECTURES MULTIPLES PAR PUIITS) EST UTILISEE, LES SPECIFICATIONS NE SONT PAS VALIDES.



PRECAUTION

LE LOGICIEL N'AFFICHE QU'UN APERÇU SCHEMATIQUE DU MODELE DE MESURE. OPTIMISEZ PAR CONSEQUENT LES PARAMETRES MULTIPLE READS PER WELL (LECTURES MULTIPLES PAR PUIITS) POUR CHAQUE NOUVELLE APPLICATION. S'ASSURER QUE LA BORDURE SELECTIONNEE EST SUFFISANTE POUR EVITER UN CHEVAUCHEMENT ENTRE LE FAISCEAU LUMINEUX ET LA PAROI DU PUIITS.



PRECAUTION

UNE VALEUR DE BORDURE TROP FAIBLE PEUT ENTRAINER DES RESULTATS DE MESURE ERRONES EN RAISON D'UN CHEVAUCHEMENT ENTRE LE FAISCEAU LUMINEUX ET LA PAROI DU PUIITS.

4.8.4 Affichage des résultats dans MS Excel

La feuille de résultats MS Excel générée par le logiciel i-control affiche un aperçu graphique schématique (**Multiple Reads per Well – alignment** [Lectures multiples par puits – Alignement]) ; voir la Figure 28) des points de mesure. Un numéro est affecté à chaque point de mesure. Les résultats sont présentés sous forme de liste : numéro du point de mesure par rapport à la valeur du résultat (DO ou RFU ; voir Figure 27 : Graphique d'alignement (Ligne XY, 3 x 3) pour le résultat d'une mesure de fluorescence). De plus, la déviation standard (**Stdev**) et la valeur moyenne (**Mean** [Moyenne]) des points de mesure/puits sont également affichées :

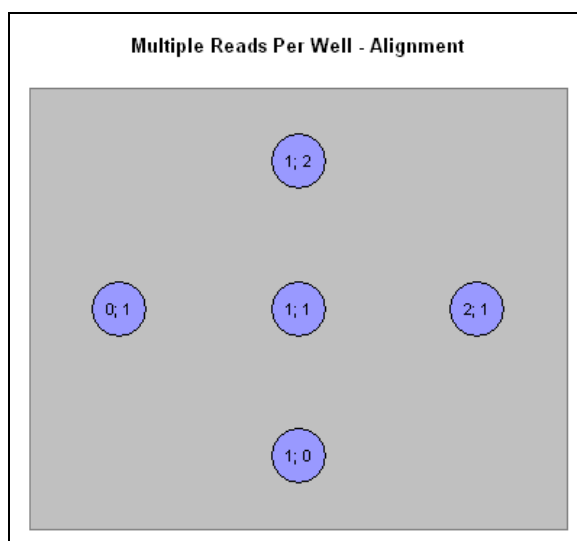


Figure 27 : Graphique d'alignement (Ligne XY, 3 x 3)

Well	Mean	StDev	1;2	2;1	1;1	0;1	1;0
A1	30	4	26	35	29	27	31
A2	28	3	28	31	23	28	30
A3	28	6	31	31	27	18	32
B1	33	5	29	35	30	41	30
B2	36	4	40	36	30	37	35
B3	32	8	30	41	22	29	39
C1	30	6	28	35	21	31	36
C2	35	5	30	36	31	37	41
C3	38	7	40	41	25	40	41

Figure 28 : Exemple de liste de résultats MS Excel générée par le logiciel i-control.

4.8.5 Diverses fonctions logicielles de MRW

La fonction MRW n'est disponible que pour les modes de mesure **Absorbance**, **Intensité de fluorescence Haut** et **Intensité de fluorescence Fond**.

La fonction MRW n'est pas active lors de la réalisation de mesures par puits.

La fonction **Reference Wavelength** (Longueur d'onde de référence) (située sur la bande d'absorbance) n'est pas disponible combinée à la fonction **Multiple Reads per Well** (Lectures multiples par puits).

4.9 Optimisation des mesures de luminescence



PRECAUTION

ALLUMER L'INSTRUMENT AU MOINS 15 MINUTES AVANT DE DEMARRER UNE MESURE DE LUMINESCENCE. CERTAINS COMPOSANTS DOIVENT PRECHAUFFER AFIN DE GARANTIR DES CONDITIONS STABLES POUR LA MESURE.

4.9.1 Temps d'intégration

À des niveaux de luminosité très faibles, un PMT ne produit pas un courant de sortie continu, qui est nécessaire pour une conversion analogique/numérique fiable. En effet, il produit une séquence d'impulsions dont le rythme moyen peut être mesuré à l'aide d'un compteur. L'avantage de la technique de comptage de photon à des niveaux de luminosité aussi faibles est que les critères de sélection de la hauteur d'impulsion permettent la différenciation du bruit électronique.

À des niveaux de luminosité très faibles, les décomptes mesurés par seconde sont proportionnels à l'intensité lumineuse. L'augmentation du temps de mesure par puits entraîne des valeurs plus précises en raison de l'impact irrégulier des photons (statistiques de photons). Le bruit photonique (bruit de grenaille) ne peut pas être réduit techniquement.



Note

Le rapport signal/bruit (S/N) peut être optimisé en augmentant le temps d'intégration. L'augmentation du temps d'intégration par un facteur de 10 entraîne une amélioration du rapport S/N d'un facteur d'environ 3.

4.9.2 Atténuation du niveau de luminosité

Lorsque la détection/le comptage de photon sont utilisés, une atténuation optique des niveaux de luminosité de luminescence plus élevée (> 10 000 000 décomptes par seconde) est nécessaire. Dans ce cas, trop de photons pénètrent simultanément dans le détecteur de luminescence et ne peuvent pas être distingués comme impulsions de sortie distinctes. Les taux de décompte diminueraient même en dessous des valeurs à des niveaux de luminosité plus faibles.

Par conséquent, les valeurs > 10 000 000 décomptes par seconde (sans atténuation) sont affichées comme **INVALID** (NON VALIDE) dans la feuille de résultats.

Le système optique de luminescence du lecteur **Infinite** peut atténuer des niveaux de luminosité par un facteur fixe de 1 (aucun) ou 100 (2 DO).

Parallèlement, l'intervalle de mesure utilisable sera décalé vers des niveaux de luminosité plus élevés (< 1 000 000 000 décomptes par seconde).

4.10 Mesures avec injecteurs

4.10.1 Amorçage et lavage du lecteur Infinite



PRECAUTION

LE PORTE-INJECTEUR DOIT SE TROUVER EN POSITION DE SERVICE
POUR LE LAVAGE ET L'AMORÇAGE.
L'AMORÇAGE ET LE LAVAGE NE DOIVENT PAS ETRE REALISES SI
L'INJECTEUR SE TROUVE DANS L'INSTRUMENT !

La séquence de remplissage initial du système d'injecteur (amorçage) ainsi que la séquence de nettoyage du système d'injecteur (lavage) doivent s'effectuer en dehors de l'instrument.

Pour ces procédures, le porte-injecteur est retiré de l'instrument et placé en position de service de la boîte de l'injecteur.



Boutons d'amorçage/de lavage
pour les injecteurs A et B

Figure 29 : Boîte de l'injecteur avec injecteur en **position de service** ; les injecteurs sont retirés du logement du porte-injecteur et insérés dans le support du système de porte-injecteur.

Pour les séquences d'amorçage et de lavage du système d'injecteur, un réglage par défaut de la vitesse d'injection et du volume distribué est fourni. Si nécessaire, les paramètres d'amorçage peuvent être ajustés dans la fenêtre de contrôle de l'injecteur du logiciel i-control.

Le volume d'amorçage dépend de la longueur de la tubulure. Deux types de tubulures d'injection sont disponibles : **longue** : 105 cm, et **courte** : 80 cm.

Le volume d'amorçage minimal est de 700 µl pour un injecteur avec tubulure courte et de 850 µl pour un injecteur avec tubulure longue.

**PRECAUTION**

NE PAS TOUCHER LES AIGUILLES D'INJECTEUR. ELLES PEUVENT FACILEMENT SE TORDRE OU SE DESALIGNER, CE QUI PEUT ENTRAINER DES PROBLEMES D'INJECTION OU ENDOMMAGER L'INSTRUMENT.

SI LE PORTE-INJECTEUR N'EST PAS CORRECTEMENT INSERE DANS LE PORT DE L'INJECTEUR, LE CAPTEUR D'INJECTEUR NE DETECTE PAS L'INJECTEUR INSERE ; PAR CONSEQUENT, LE LAVAGE ET L'AMORÇAGE SONT ACTIVES, CE QUI PEUT ENDOMMAGER L'INSTRUMENT. DE PLUS, LES OPERATIONS DE DISTRIBUTION ET D'INJECTION NE SERONT PAS POSSIBLES.

Amorçage

Avant de pouvoir utiliser le système d'injection, une séquence de remplissage initial (amorçage) est nécessaire pour retirer l'air et pour remplir entièrement le système de liquide.

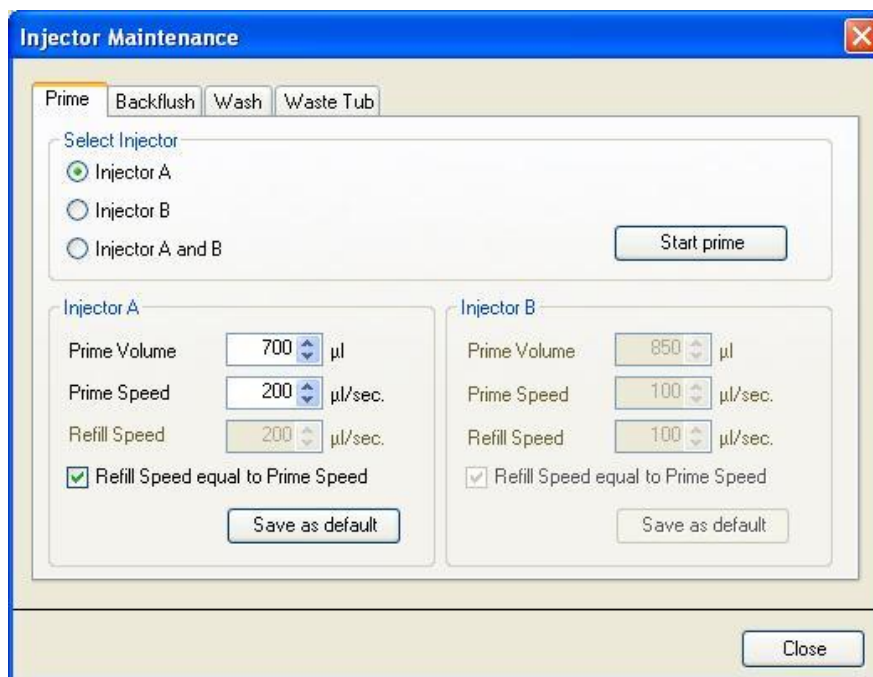
Il est recommandé d'effectuer une séquence de lavage avant l'amorçage.

L'amorçage peut être réalisé en utilisant le logiciel i-control ou au moyen des boutons physiques de la boîte de l'injecteur :

1. Remplir les flacons de stockage avec les réactifs nécessaires et insérer le(s) tube(s) d'alimentation. S'assurer que le ou les tubes atteignent le fond du flacon.
2. Retirer l'injecteur du logement du porte-injecteur et l'insérer dans la position de service de la boîte de l'injecteur.
3. Placer un conteneur vide sous l'injecteur.

Procédure d'amorçage (i-control) :

1. Ajustez les paramètres dans l'**onglet Prime** (Amorcer) de la boîte de dialogue **Injector Maintenance** (Maintenance de l'injecteur) dans le **menu Settings** (Paramètres).
2. Démarrez la procédure d'amorçage en cliquant sur **Start prime** (Démarrer amorçage) dans la boîte de dialogue Injector Maintenance (Maintenance de l'injecteur).
3. Contrôlez visuellement les seringues à la recherche de bulles d'air. Toute bulle d'air doit être supprimée après l'amorçage afin de garantir des performances d'injection optimales.



4. Sélectionnez l'un des injecteurs **Injector A** (Injecteur A) ou **Injector B** (Injecteur B) ou **Injector A and B** (Injecteur A et B).
5. Sélectionnez le **Prime Volume** (Volume d'amorçage) (700 - 60 000 µl – tubulure courte)
(850 - 60 000 µl – tubulure longue)
6. Sélectionnez la **Prime Speed** (Vitesse d'amorçage) (100 - 300 µl/s).
7. Sélectionnez la **Refill Speed** (Vitesse de remplissage) (100 - 300 µl/s) ou sélectionnez **Refill Speed equal to Prime Speed** (Vitesse de remplissage égale à vitesse d'amorçage).
8. Démarrez l'amorçage en cliquant sur le bouton **Start prime** (Démarrer amorçage).
9. Cliquez sur le bouton **Save as default** (Enregistrer par défaut) pour enregistrer les paramètres sélectionnés dans le bouton physique correspondant (A ou B) sur la boîte de l'injecteur. Lorsque les boutons physiques seront utilisés pour l'amorçage, ces paramètres seront appliqués.
10. Sélectionnez **Close** (Fermer) pour quitter la boîte de dialogue

Procédure d'amorçage (bouton physique) :

L'amorçage peut également être réalisé sans utiliser le logiciel. Les paramètres d'amorçage peuvent être enregistrés sur l'injecteur en cliquant sur **Save as Default** (Enregistrer par défaut) sur l'onglet **Prime** (Amorcer) de la boîte de dialogue **Injector Maintenance** (Maintenance de l'injecteur) du logiciel i-control (dans le menu **Settings** [Paramètres], cliquez sur **Injectors...** [Injecteurs] et la boîte de dialogue **Injector Maintenance** [Maintenance de l'injecteur] apparaît). Appuyez sur le bouton **Prime/Wash** (Amorcer/Lavage) de la boîte de l'injecteur pour lancer la séquence d'amorçage en appliquant les paramètres par défaut (voir la Figure 29 : Boîte de l'injecteur avec injecteur **en position de service**, page 78). L'injecteur doit être connecté à l'instrument et l'instrument doit être sous tension. Lancez la procédure d'amorçage en appuyant sur le bouton **Prime/Wash** (Amorcer/Lavage) pendant moins de 3 secondes.

Contrôlez visuellement les seringues à la recherche de bulles d'air. Toute bulle d'air doit être supprimée après l'amorçage afin de garantir des performances d'injection optimales.

Après une procédure d'amorçage réussie, réinsérez l'injecteur dans l'instrument. Fermez complètement le couvercle du module de pompage avant de démarrer une mesure. Les injecteurs sont maintenant prêts à l'emploi.

Lorsque vous démarrez une mesure avec les opérations d'**injection** ou de **distribution**, 5 µl de liquide sont distribués dans un conteneur à usage unique sur le porte-plaque avant de lancer l'**injection** ou la **distribution**. Cette séquence de distribution initiale garantit que les conditions d'injection/de distribution sont identiques pour chaque puits.

**PRECAUTION**

**FERMEZ COMPLETEMENT LE COUVERCLE DU MODULE DE POMPAGE
(BOITE DE L'INJECTEUR) AVANT DE DEMARRER UNE MESURE.**

Refoulement de réactif

Le volume mort du système d'injection (aiguilles d'injecteur, seringues, soupapes et tubulure) est d'environ 100 µl pour chaque seringue après la réalisation de la procédure de refoulement. La fonction de refoulement est de renvoyer tout réactif inutilisé dans les flacons de stockage.

La vitesse d'injection peut être ajustée au moyen du logiciel afin de permettre un mélange correct des réactifs. La vitesse d'injection optimale dépend des paramètres de l'essai, tels que la viscosité des liquides, le format de plaque et le comportement métrologique des liquides.

Le refoulement de réactif permet de refouler dans les flacons de stockage les réactifs restant dans le système de tubes. Cette action peut être éventuellement réalisée avant le lavage du système d'injecteur afin de minimiser le volume mort.

Avant de réaliser la procédure de **refoulement** :

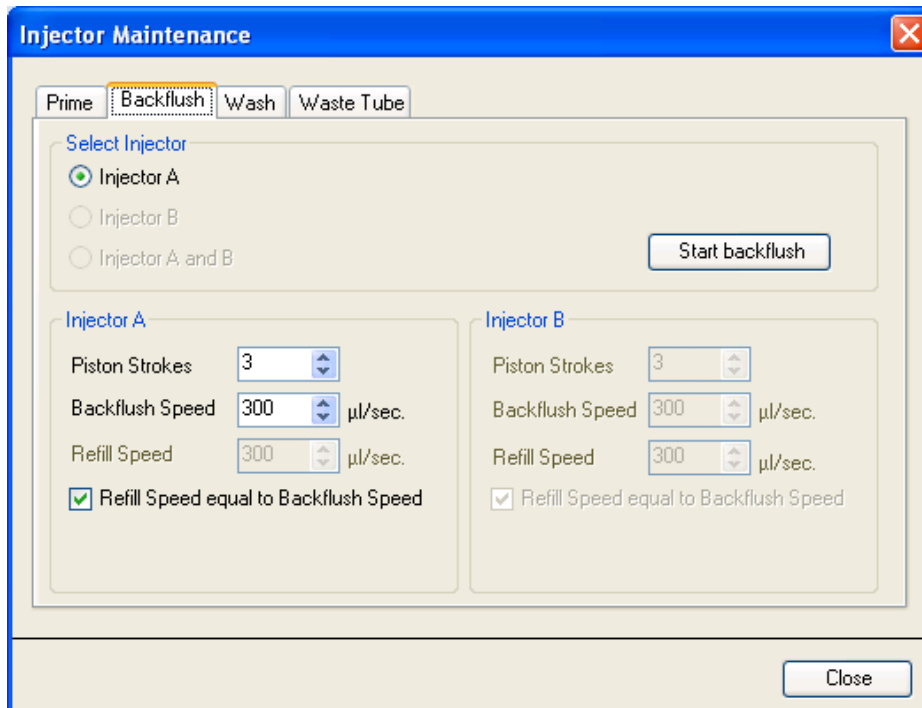
Retirez le porte-injecteur de l'instrument et l'insérez dans la position de service de la boîte de l'injecteur.

Insérez la tubulure d'alimentation dans le flacon de stockage approprié.

Procédure de refoulement (i-control) :

Ajustez les paramètres dans l'onglet **Backflush** (Rinçage) de la boîte de dialogue **Injector Maintenance** (Maintenance de l'injecteur) dans le menu **Settings** (Paramètres).

Lancez la procédure de refoulement de réactif en cliquant sur **Start backflush** (Démarrer le rinçage).



1. Sélectionnez l'un des injecteurs **Injector A** (Injecteur A) ou **Injector B** (Injecteur B) ou **Injector A and B** (Injecteur A et B) (seuls les injecteurs **amorcés** sont disponibles pour le **refoulement**).
2. Sélectionnez les **Piston Strokes** (Coups de piston) (1 – 60 ; 1 coup équivaut à 1 ml)
3. Sélectionnez la **Backflush Speed** (Vitesse de rinçage) (100 - 300 µl/s).
5. Sélectionnez la **Refill Speed** (Vitesse de remplissage) (100 - 300 µl/s) ou sélectionnez **Refill Speed equal to Backflush Speed** (Vitesse de remplissage égale à vitesse de rinçage).
5. Cliquez sur **Start backflush** (Démarrer le rinçage) pour lancer la procédure de refoulement de réactif.
6. Cliquez sur **Close** (Fermer) pour quitter la boîte de dialogue.



PRECAUTION

**LE PORTE-INJECTEUR DOIT SE TROUVER EN POSITION DE SERVICE
POUR L'ACTION DE RINÇAGE.
NE PAS EFFECTUER LE RINÇAGE SI L'INJECTEUR EST INSERE DANS
L'INSTRUMENT !**

4.10.2 Lavage

Avant la mise hors tension de l'instrument, il est recommandé de réaliser une procédure de lavage afin de nettoyer le système d'injecteur.

Le lavage peut être réalisé en utilisant le logiciel i-control ou au moyen des boutons physiques de la boîte de l'injecteur.

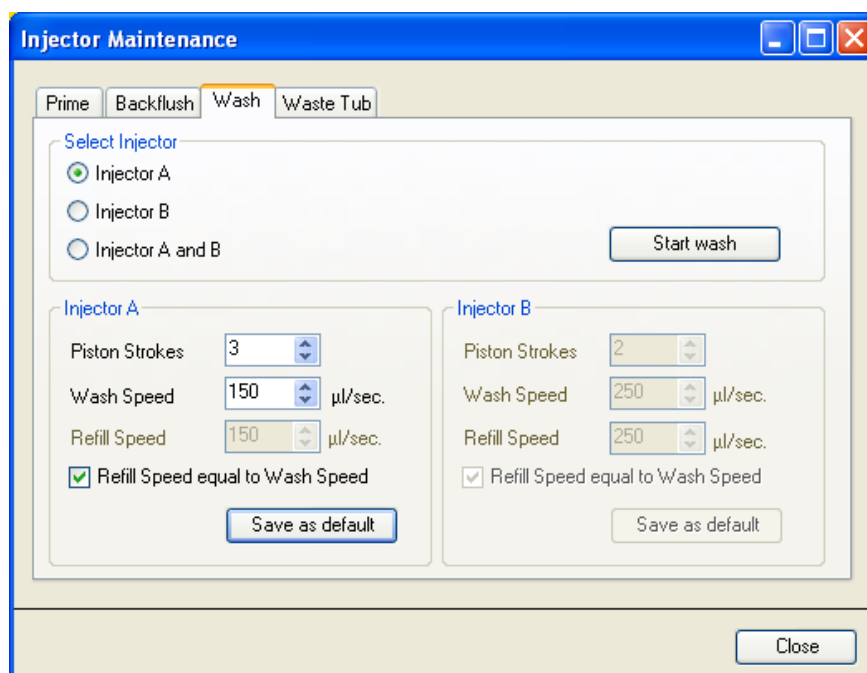
Avant de réaliser la procédure de lavage :

1. Remplir les flacons de stockage avec les réactifs de lavage nécessaires (eau distillée, éthanol à 70 %, etc.) et insérer les tubes d'alimentation. S'assurer que les tubes atteignent le fond du flacon.
2. Retirer l'injecteur du logement du porte-injecteur et l'insérer dans la position de service de la boîte de l'injecteur.
3. Placer un conteneur vide sous l'injecteur.

Procédure de lavage (i-control) :

Ajustez les paramètres dans l'onglet **Wash** (Lavage) de la boîte de dialogue **Injector Maintenance** (Maintenance de l'injecteur) dans le menu **Settings** (Paramètres).

1. Démarrez la procédure de lavage en cliquant sur le bouton **Start wash** (Démarrer lavage).



2. Sélectionnez l'un des injecteurs **Injector A** (Injecteur A) ou **Injector B** (Injecteur B) ou **Injector A and B** (Injecteur A et B).
3. Sélectionnez les **Piston Strokes** (Coups de piston) (1 – 60 ; 1 coup équivaut à 1 ml)
4. Sélectionnez la **Wash Speed** (Vitesse de lavage) (100 - 300 µl/s).
5. Sélectionnez la **Refill Speed** (Vitesse de remplissage) (100 - 300 µl/s) ou sélectionnez **Refill Speed equal to Wash Speed** (Vitesse de remplissage égale à vitesse de lavage).

6. Cliquez sur **Start wash** (Démarrer lavage) pour lancer la procédure de lavage.
7. Cliquez sur **Close** (Fermer) pour quitter la boîte de dialogue.

Procédure de lavage (boutons physiques) :

Le lavage peut également être réalisé sans utiliser le logiciel. Les paramètres de lavage peuvent être enregistrés sur l'injecteur en cliquant sur **Save as Default** (Enregistrer par défaut) sur l'onglet **Wash** (Lavage) de la boîte de dialogue **Injector Maintenance** (Maintenance de l'injecteur) (dans le menu **Settings** [Paramètres], cliquez sur **Injectors...** [Injecteurs] et la boîte de dialogue **Injector Maintenance** [Maintenance de l'injecteur] apparaît) du logiciel i-control. Appuyez sur le bouton **Prime/Wash** (Amorcer/Lavage) de la boîte de l'injecteur pour lancer la séquence de lavage en appliquant les paramètres par défaut. (Voir la Figure 29 : Boîte de l'injecteur avec injecteur en **position de service**, page 78). L'injecteur doit être connecté à l'instrument et l'instrument doit être sous tension. Lancez la procédure de lavage en appuyant sur le bouton Prime/Wash (Amorcer/Lavage) pendant plus de 3 secondes.



PRECAUTION

**LE PORTE-INJECTEUR DOIT SE TROUVER EN POSITION DE SERVICE POUR L'ACTION DE LAVAGE.
NE PAS EFFECTUER LE LAVAGE SI L'INJECTEUR EST INSERE DANS L'INSTRUMENT !**



IMPORTANT

VEILLER A REALISER UNE PROCEDURE DE LAVAGE FINAL AVEC DE L'EAU DISTILLEE ET VIDER LE SYSTEME D'INJECTEUR. POUR PRENDRE SOIN DU SYSTEME ET PROLONGER SA DUREE DE VIE, REMPLIR LE SYSTEME D'INJECTEUR DE LIQUIDE (EAU) AVANT DE METTRE L'INSTRUMENT HORS TENSION.



IMPORTANT

VEUILLEZ CONSULTER LE KIT DE REACTIF POUR DES CONSEILS SUR LA FAÇON DE RETIRER ENTIEREMENT LE SUBSTRAT DU SYSTEME DE TUBES.



IMPORTANT

MANIPULER LES INJECTEURS AVEC SOIN, CAR S'ILS SONT ENDOMMAGES, LA PRECISION DE LA DISTRIBUTION POURRAIT ETRE ALTEREE. CECI POURRAIT ENDOMMAGER L'INSTRUMENT.



Note

Les aiguilles d'injecteur peuvent être remplacées en remplaçant le porte-injecteur avec la tubulure correspondante.

**IMPORTANT**

LE OU LES BOUTONS SUR LA BOITE DE L'INJECTEUR INCLUENT DEUX FONCTIONS :

- **APPUYEZ SUR LE BOUTON PENDANT MOINS DE 3 SECONDES POUR LANCER L'AMORÇAGE.**
- **APPUYEZ SUR LE BOUTON PENDANT PLUS DE 3 SECONDES POUR LANCER LE LAVAGE.**

LES PARAMETRES DOIVENT ETRE DEFINIS DANS LE LOGICIEL I-CONTROL.

Collecteur de rejets

Lorsque vous démarrez une mesure avec les opérations d'**injection** ou de **distribution**, 5 µl de liquide sont distribués dans un conteneur à usage unique sur le porte-plaque avant de lancer l'**injection** ou la **distribution**.

Cette séquence de distribution initiale garantit que les conditions d'injection/de distribution sont identiques pour chaque puits. Cette séquence de distribution spéciale dépend du mode de remplissage sélectionné sur l'injecteur ou la bande de distribution (voir le chapitre 4.10.4 Modes avec injecteur (i-control) pour plus de détails).

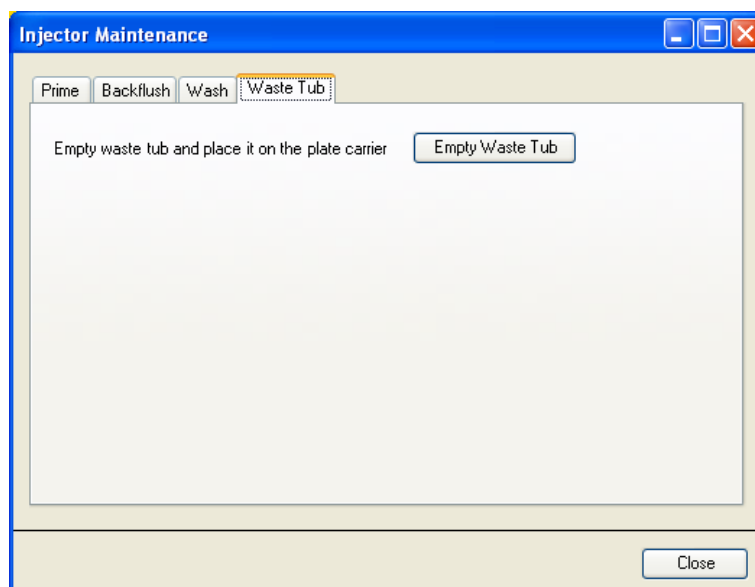
Si le mode de remplissage **standard** est utilisé, la séquence de distribution est effectuée après chaque remplissage. Si la fonction **Refill for every injection** (Remplir pour chaque injection) est utilisée, la séquence de distribution n'est effectuée qu'une fois lorsque la mesure est démarrée.

Par conséquent, le réservoir à déchets à usage unique (collecteur de rejets) doit être vidé de temps à autre. Le volume de remplissage maximum est de 1,5 ml. Un compteur interne contrôle les volumes de liquide distribués ; le logiciel avertit l'utilisateur lorsqu'il est temps de vider le collecteur de rejets.



Figure 30 : Collecteur de rejets sur porte-plaque

Procédure de vidage du collecteur de rejets (i-control) :



Cliquez sur le bouton **Empty Waste tub** (Videz le collecteur de rejets) pour sortir automatiquement le porte-plaque. Retirez le collecteur de rejets et videz son contenu. Une fois le collecteur de rejets vidé, remplacez-le sur le porte-plaque. Le logiciel i-control vous avertit lorsque le collecteur de rejets doit de nouveau être vidé.



PRECAUTION

INSTALLER LE COLLECTEUR DE REJETS SUR LE TRANSPORT DE PLAQUE AVANT DE DEMARRER UNE MESURE AVEC LES OPERATIONS D'INJECTION ET/OU DE DISTRIBUTION.



PRECAUTION

IL EST RECOMMANDE DE VIDER LE COLLECTEUR DE REJETS AVANT DE DEMARRER UNE MESURE ET DE LE VIDER AU MOINS UNE FOIS PAR JOUR.



AVERTISSEMENT

DES DANGERS BIOLOGIQUES PEUVENT DERIVER DU MATERIEL DE DECHET (MICROPLAQUES) DES PROCESSUS EXECUTES AVEC LE LECTEUR INFINITE.

TRAITEZ LES MICROPLAQUES UTILISEES, LES AUTRES CONSOMMABLES ET TOUTES LES SUBSTANCES EMPLOYEES DANS LE RESPECT DES BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE. SE RENSEIGNER SUR LES LIEUX DE COLLECTE ET LES METHODES DE REJET APPROPRIEES DANS VOTRE PAYS, ETAT OU REGION.

4.10.3 Avant de démarrer une mesure avec des injecteurs

Avant de démarrer une mesure, s'assurer que :

- Les tubes sont propres. Si ce n'est pas le cas, consulter le chapitre 4.10.1 Amorçage et lavage du lecteur Infinite pour plus de détails sur la façon de nettoyer le système d'injecteur.
- Les tubes d'injecteur sont correctement insérés et fixés dans les flacons de stockage.
- Le système d'injecteur est amorcé. Il n'est pas possible de commencer une mesure sans amorcer le système.

Lors de l'amorçage du système :

- Vérifier que les tubes ne fuient pas, par un contrôle visuel ou à l'aide d'un liquide non dangereux, avant de réaliser l'amorçage avec des réactifs onéreux.
- Vérifier que les tubes ne forment pas de coudes, par un contrôle visuel ou à l'aide d'un liquide non dangereux, avant de réaliser l'amorçage avec des réactifs onéreux.
- Vérifier que les aiguilles d'injecteur ne sont pas tordues.
- Si, pour une raison quelconque, les tubes doivent être remplacés, ne pas oublier de réaliser le lavage et l'amorçage avant de commencer une mesure.

4.10.4 Modes avec injecteur (i-control)

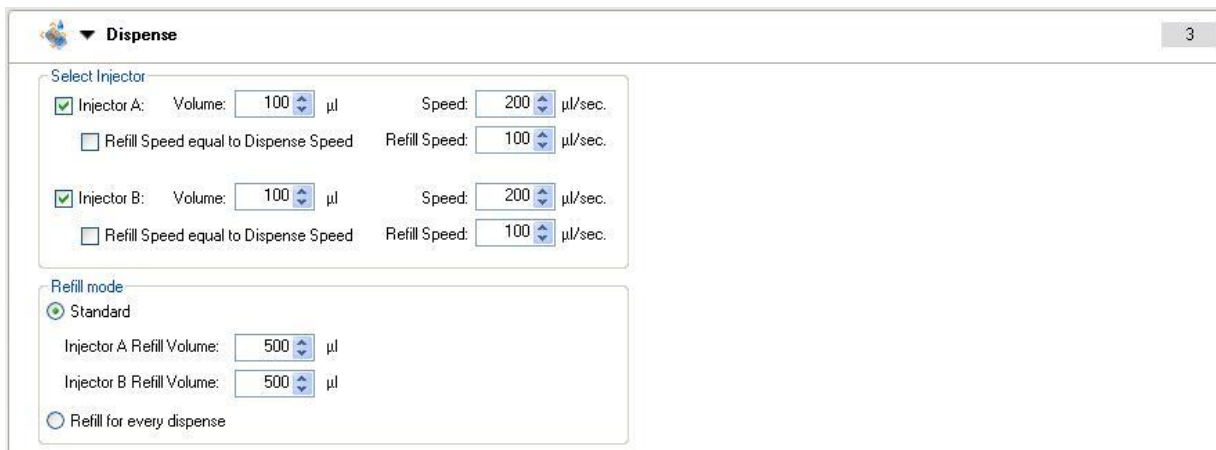
Lorsqu'un injecteur est utilisé, deux modes sont disponibles :

Dispense (Distribution) : Le mode de distribution permet de distribuer un liquide par plaque dans les puits sélectionnés

Injection : Ce mode doit être utilisé combiné à une bande de mesure. L'injection est réalisée dans un mode par puits.

Mode de distribution

Les paramètres de distribution peuvent être ajustés au moyen du logiciel :



The screenshot shows the 'Dispense' configuration window with the following settings:

- Select Injector:**
 - Injector A:** Volume: 100 µl, Speed: 200 µl/sec.
 - Refill Speed equal to Dispense Speed
 - Refill Speed: 100 µl/sec.
 - Injector B:** Volume: 100 µl, Speed: 200 µl/sec.
 - Refill Speed equal to Dispense Speed
 - Refill Speed: 100 µl/sec.
- Refill mode:**
 - Standard**
 - Injector A Refill Volume: 500 µl
 - Injector B Refill Volume: 500 µl
 - Refill for every dispense

Dispense (Distribution)

Select Injector (Sélectionner injecteur) : Injector A (Injecteur A) et/ou Injector B (Injecteur B) peuvent être sélectionnés.

Speed (Vitesse) : La vitesse d'injection peut être définie entre 100 et 300 µl/s pour chaque injecteur.

Sélectionnez une **Refill speed** (Vitesse de remplissage) comprise entre 100 et 300 µl/s pour chaque injecteur ou sélectionnez **Refill Speed equal to Dispense Speed** (Vitesse de remplissage égale à vitesse de distribution).

Sélectionnez le mode de remplissage **Standard** si un remplissage doit être effectué lorsque la seringue est vide (plusieurs séquences de distribution sont réalisées avant le remplissage, le remplissage est effectué après une distribution d'environ 800 µl).

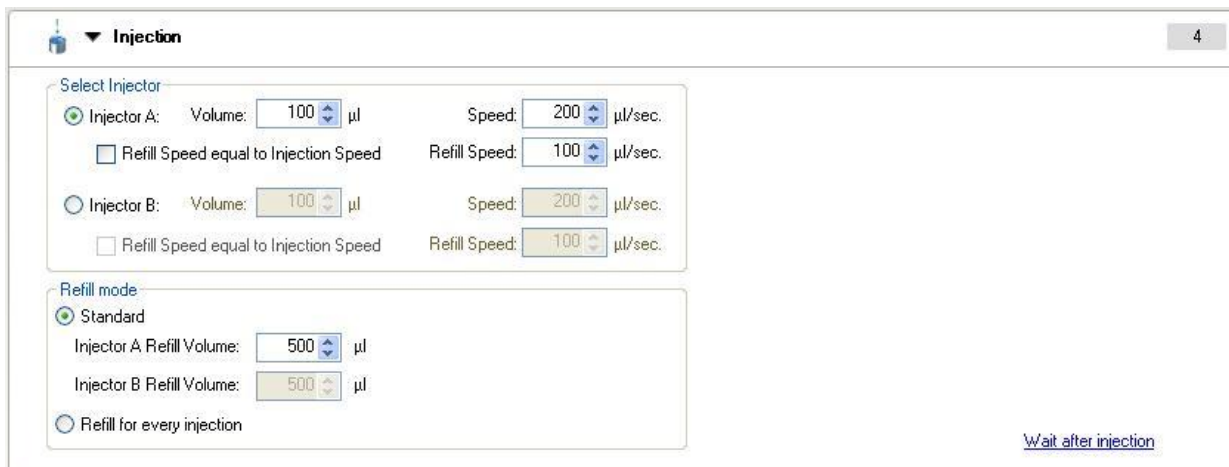
Sélectionnez **Refill for every dispense** (Remplir pour chaque distribution) si le remplissage doit être effectué pour chaque séquence de distribution.

Utilisation de la bande de distribution

Plate (Plaque)	Sélectionnez un type de plaque approprié
Part of the plate (Partie de la plaque)	En option ; Sélectionnez les puits à distribuer
Dispense (Distribution)	Définissez les paramètres de distribution. Si les deux injecteurs sont sélectionnés, tous les puits sont d'abord distribués avec l'injecteur A puis avec l'injecteur B. La bande de distribution ne nécessite pas une bande de mesure supplémentaire.
Dispense volume (Volume de distribution)	Le volume d'injection dépend du type de microplaque. Les fichiers de définition de plaque incluent un volume de travail. Ce volume de travail définit le volume maximum à distribuer dans la microplaque sélectionnée. Par conséquent, toujours s'assurer que le fichier de définition de plaque sélectionné contient le réglage correct pour le volume de travail. Le volume de distribution maximum est de 800 µl/bande de distribution. Si des volumes supérieurs à 800 µl doivent être distribués (par ex. dans des plaques à 6 puits), plus d'une bande de distribution doit être utilisée.

Mode d'injection

Les paramètres d'injection peuvent être ajustés au moyen du logiciel :



The screenshot shows the 'Injection' settings window. It includes sections for 'Select Injector' (with options for Injector A and B, each with volume and speed settings, and a checkbox for 'Refill Speed equal to Injection Speed'), 'Refill mode' (with 'Standard' selected and 'Refill for every injection' as an option), and 'Refill mode' sub-sections for 'Injector A Refill Volume' and 'Injector B Refill Volume'. A 'Wait after injection' link is visible at the bottom right.

Injection

Select Injector (Sélectionner injecteur) :

Injector A (Injecteur A) ou Injector B (Injecteur B) peut être sélectionné. Il n'est pas possible de sélectionner les deux injecteurs sur une bande. Si une mesure avec deux injecteurs doit être réalisée, deux bandes d'injecteur sont nécessaires.

Speed (Vitesse) : La vitesse d'injection peut être définie entre 100 et 300 $\mu\text{l/s}$ pour chaque injecteur.

Sélectionnez une **Refill speed (Vitesse de remplissage)** comprise entre 100 et 300 $\mu\text{l/s}$ pour chaque injecteur ou cochez la case **Refill Speed equal to Injection Speed (Vitesse de remplissage égale à vitesse d'injection)**.

Sélectionnez le mode de remplissage **Standard** si un remplissage doit être effectué lorsque la seringue est vide (plusieurs séquences d'injection sont réalisées avant le remplissage, le remplissage est effectué après une distribution d'environ 800 μl). Sélectionnez **Refill for every injection (Remplir pour chaque injection)** si le remplissage doit être effectué pour chaque séquence d'injection.

Injection volume (Volume d'injection)

Le volume d'injection dépend du type de microplaque. Les fichiers de définition de plaque incluent un volume de travail. Ce volume de travail définit le volume maximum à injecter dans la microplaque sélectionnée. Par conséquent, toujours s'assurer que le fichier de définition de plaque sélectionné contient un réglage correct pour le volume de travail. Le volume d'injection maximum est de 800 μl /bande d'injection. Si des volumes supérieurs à 800 μl doivent être injectés (par ex. dans des plaques à 6 puits), plus d'une bande d'injection doit être utilisée.

Utilisation de la bande d'injection

The screenshot shows a software configuration window with five main sections:

- Plate (1):** Plate definition: [GRE96fb_chimney] - Greiner 96 Flat Black. Includes a 'Details...' button and a checkbox for 'Plate with cover'.
- Part of Plate (2):** A 96-well grid (A-H, 1-12) with a 'Details...' button. Wells A1-A5 are highlighted in yellow.
- Well (3):** A section for well configuration.
- Injection (4):**
 - Select Injector:**
 - Injector A: Volume: 100 µl, Speed: 200 µl/sec. Refill Speed: 100 µl/sec. (Checked)
 - Injector B: Volume: 100 µl, Speed: 200 µl/sec. Refill Speed: 100 µl/sec. (Unchecked)
 - Refill mode:**
 - Standard: Injector A Refill Volume: 500 µl, Injector B Refill Volume: 500 µl. (Checked)
 - Refill for every injection: (Unchecked)
- Absorbance (Well-wise) (5):**
 - Wavelength:** Measurement: 400 nm (9). Reference: (Unchecked)
 - Read:** Number of flashes: 25. Settle time: 0 ms.
 - Multiple Reads per Well:** Multiple reads per well: (Unchecked)
 - Label:** Name: Label1

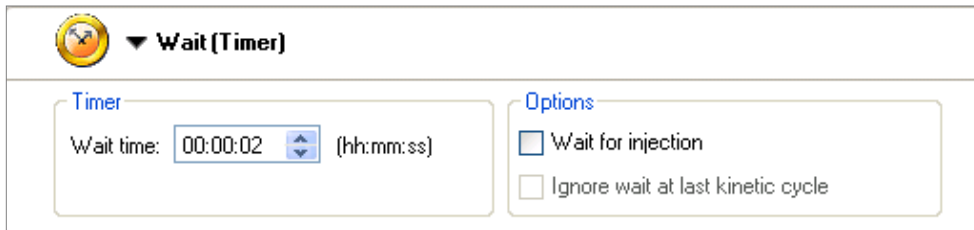
Plate (Plaque)	Sélectionnez un type de plaque approprié.
Part of the plate (Partie de la plaque)	En option ; sélectionnez les puits à distribuer
Well (Puits)	La bande puits est obligatoire. L'injection n'est possible qu'avec une bande puits . Cette bande garantit que les bandes suivantes prévues sont exécutées par puits.
Injection	Définissez les paramètres d'injection. Un seul injecteur peut être sélectionné par bande. Si les deux injecteurs sont requis ou si un injecteur effectue deux injections, une bande d'injection supplémentaire doit être insérée.
Measurement strip (Bande de mesure) (Exemple : Absorbance)	Il est obligatoire d'utiliser au moins une bande de mesure combinée à la bande d'injection. La position de la ou des bandes de mesure (avant et/ou après la bande d'injection) dépend de l'application et est par conséquent sélectionnable par l'utilisateur.

**Note**

S'assurer que la valeur du volume de travail correspondant dans votre fichier de définition de plaque est supérieure au volume utilisé pour l'injection.

Bande attente

Une bande **Wait (Timer)** (Attente [horloge]) (délai de temporisation ou temps du repos) peut être insérée dans la procédure.



Wait (Timer)

Timer
Wait time: 00:00:02 (hh:mm:ss)

Options
 Wait for injection
 Ignore wait at last kinetic cycle

Wait time (Temps d'attente)

Sélectionnez une durée au format hh:mm:ss comprise entre 00:00:01 et 23:59:59

Options

Si **Wait for injection** (Attendre l'injection) est sélectionné, **le temps d'attente inclut le temps d'injection.**

Si **Wait for injection** (Attendre l'injection) n'est PAS sélectionné, le temps d'attente est ajouté au temps d'injection.

4.11 Mesures de blanc

Le logiciel permet la mesure appelée mesure de **blanc**. **Blanking** dans le menu **Instrument** n'est disponible que si un script de mesure contenant une mesure de cuvette est ouvert. Lorsque **Blanking** est sélectionné dans le menu **Instrument**, une mesure d'absorbance avec le port de cuvette est activée en fonction des paramètres (longueur d'onde, nombre de flash, temps du repos) du script actif. L'utilisateur est invité à insérer la cuvette de blanc (par exemple contenant une solution tampon) et à démarrer la mesure. Les données de blanc sont ensuite consignées dans un tableur Excel. Les données sont également enregistrées dans le logiciel et peuvent être appliquées aux mesures de cuvette suivantes réalisées avec les mêmes paramètres. Les données de blanc sont automatiquement soustraites lorsque la case **Apply Blanking** (Appliquer blanking) est cochée dans la bande **Absorbance** ou **Absorbance Scan** (Scan d'absorbance).

Les données de blanc sont stockées dans le logiciel tant qu'aucune mesure de blanc n'est réalisée ou jusqu'à la fermeture du logiciel. Veuillez noter que les données de blancs stockées seront écrasées sans avertissement préalable si une autre mesure de blanc est démarrée. Les données de blanc stockées sont également supprimées sans avertissement préalable lorsque le logiciel est fermé.

**PRECAUTION**

LES DONNEES DE BLANCS SERONT ECRASEES SANS AVERTISSEMENT PREALABLE LORSQU'UNE AUTRE MESURE DE BLANC SERA DEMARREE. LES DONNEES DE BLANC SERONT SUPPRIMEES SANS AVERTISSEMENT PREALABLE LORSQUE LE LOGICIEL I-CONTROL SERA FERME.

4.12 Mesures de cuvette

4.12.1 Bande de cuvette

Pour réaliser des mesures de cuvette, une bande **Cuvette** est nécessaire



Figure 31 : Bande de cuvette

Pour certaines applications, il peut être nécessaire de combiner une mesure de microplaque avec une mesure de cuvette. Par conséquent, le logiciel i-control permet l'utilisation d'une bande de cuvette et d'une bande de plaque au sein d'un script de mesure. La mesure de cuvette doit être positionnée avant la mesure de microplaque. Pour effectuer une mesure de microplaque précise, la porte de la cuvette ne doit pas être ouverte. Ainsi, le logiciel ne permet pas à l'utilisateur d'utiliser une bande **Move cuvette OUT** (Sortir cuvette) avant la mesure de microplaque (voir également le chapitre 4.12.3).

4.12.2 Mouvements de la cuvette

La cuvette peut être rentrée et sortie à l'aide des boutons de **rentrée de la cuvette** et de **sortie de la cuvette** ou en sélectionnant **Cuvette in/Cuvette out** (Rentrer cuvette/Sortir cuvette) dans la boîte de dialogue **Instrument/Mouvements** (Instrument/Mouvements).



Figure 32 : Bouton de **sortie** et de **rentrée** de la cuvette

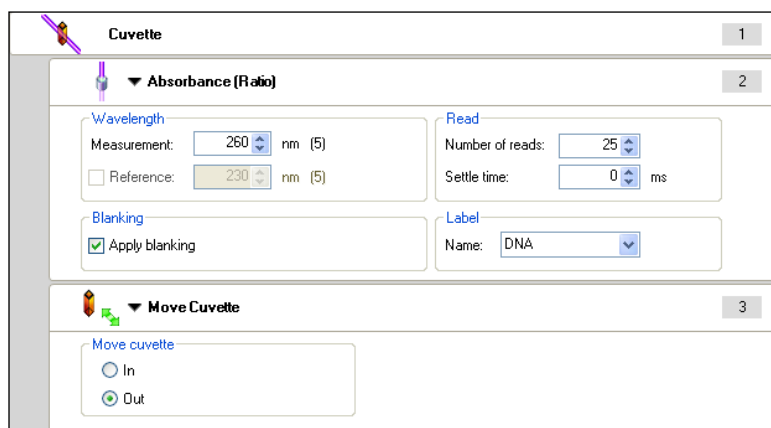
4.12.3 Exemples de cuvette avec i-control

Exemple 1 :

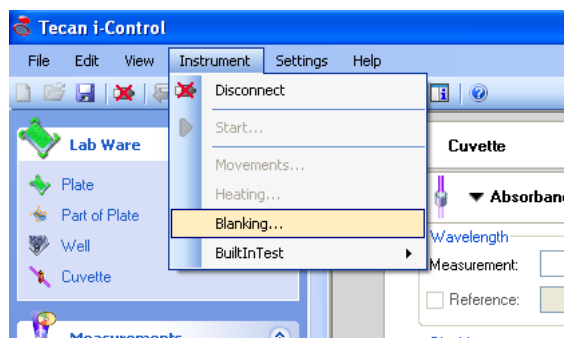
Exemple sur l'utilisation de la mesure **Blanking** lors de la mesure d'un échantillon d'ADN :

Préparez la cuvette avec un tampon d'échantillonnage

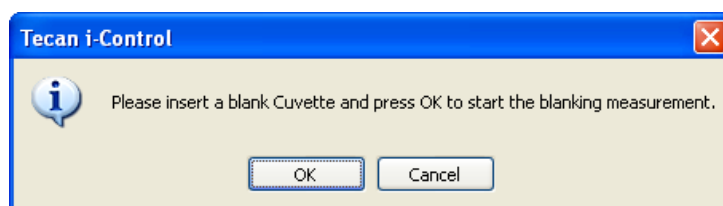
Configurez la mesure d'ADN dans le logiciel i-control :



Sélectionnez **Blanking** dans le menu **Instrument** :

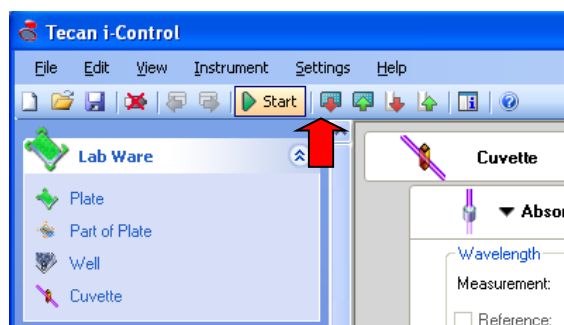


L'instrument est initialisé et le support de cuvette sort. L'utilisateur est invité à insérer la cuvette de blanc :



Insérez la cuvette de blanc et cliquez sur **OK** pour démarrer la mesure de blanc. Les données de blanc mesurées sont ensuite affichées dans un tableur Excel. Le support de cuvette sort.

Retirez la cuvette de blanc. Préparez une cuvette échantillon et installez-la sur le support de cuvette. Lancez la mesure en cliquant sur **Start** (Démarrer) :

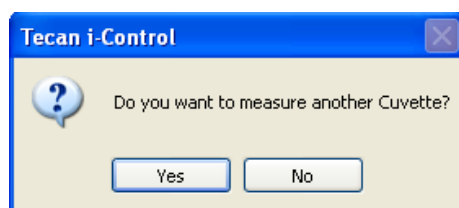


Le support de cuvette est rentré et la mesure est effectuée. Les données de mesure (Valeur [Valeur]) ainsi que les données de blanc (Blank [Blanc]) et les données différentielles (Diff) sont affichées dans un tableur Excel :

Exemple d'affichage de données lors de la mesure de deux cuvettes :

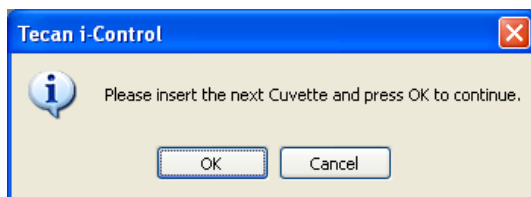
Info: Blank data from: 20.03.2006 15:34:31			
	Value	Blank	Diff
Cuv: 1	1.032	0.054	0.978
Cuv: 2	1.409	0.054	1.355

Une fois la mesure de la première cuvette terminée (Cuv: 1), le message suivant s'affiche :



Cliquez sur **No** (Non) pour terminer la mesure.

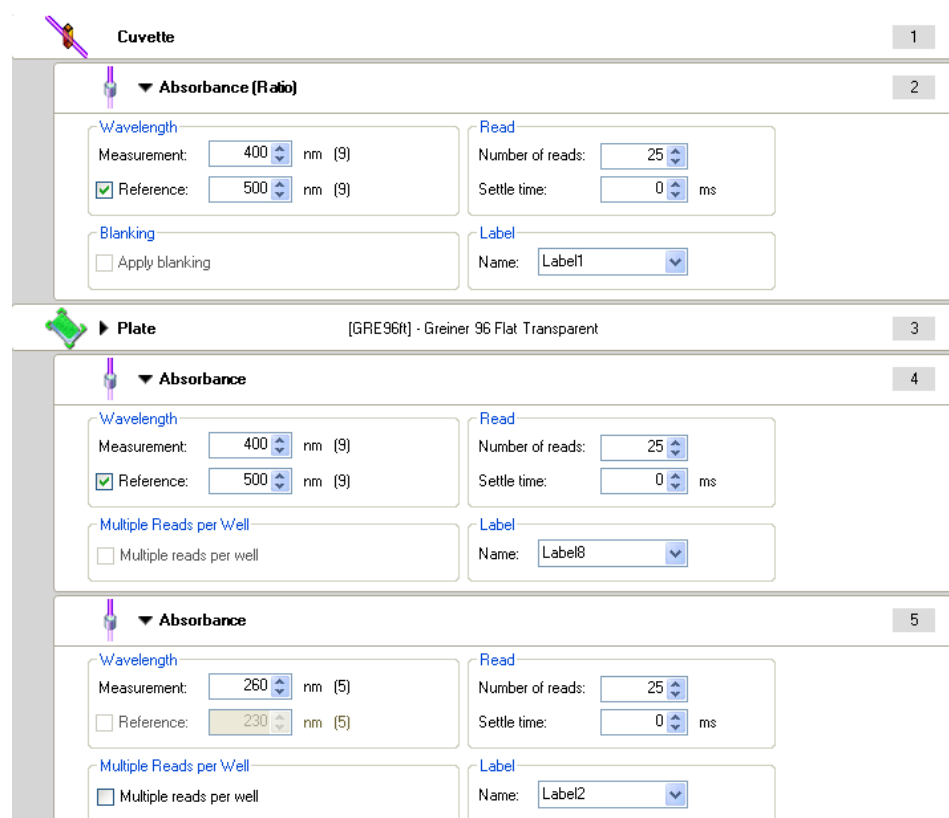
Cliquez sur **Yes** (Oui) pour continuer :



Insérez la cuvette échantillon suivante et cliquez sur **OK** pour continuer la mesure.

Exemple 2 :

Combinaison d'une mesure de microplaque et d'une mesure de cuvette :
 Pour certaines applications, il peut être nécessaire de comparer les données mesurées sur une microplaque et les données de cuvette. L'exemple suivant indique comment configurer cette mesure en général :



<p>Cuvette</p>	<p>Nécessaire pour les mesures de cuvette.</p>
<p>Absorbance strip (cuvette) (Bande d'absorbance [cuvette])</p>	<p>Jusqu'à 4 bandes d'absorbance à longueur d'onde fixe sont autorisées. La longueur d'onde de référence ne peut être sélectionnée que lorsqu'une bande d'absorbance à longueur d'onde fixe est utilisée. Apply blanking (Appliquer blanking) est désactivé lorsqu'une longueur d'onde de référence est sélectionnée. Sélectionnez les paramètres de mesure appropriés (longueur d'onde, nombre de flashes et temps du repos)</p>
<p>Plate (Plaque)</p>	<p>Nécessaire pour les mesures de microplaque. Sélectionnez un type de plaque approprié pour la mesure.</p>

<p>Part of Plate (Partie de la plaque) (non illustrée)</p>	<p>En option. Utilisez la bande part of plate (Partie de la plaque) si une seule partie de la plaque doit être mesurée.</p>
<p>Absorbance strip (microplate) (Bande d'absorbance [microplaque])</p>	<p>Jusqu'à 10 bandes d'absorbance à longueur d'onde fixe sont autorisées. Une longueur d'onde de référence n'est autorisée que sur la première bande d'absorbance. La longueur d'onde de référence est désactivée sur les bandes d'absorbance 2 à 10. Sélectionnez les paramètres de mesure appropriés (longueur d'onde, nombre de flashes et temps du repos) pour votre application.</p>

Exemple 3 :

Utilisation de la bande **Move Cuvette OUT** (Sortir cuvette) lors de la mesure d'une combinaison de microplaque et de cuvette :

The screenshot displays a sequence of 9 steps in a software interface:

- Step 1:** Cuvette
- Step 2:** Absorbance (Ratio) - Measurement wavelength: 400 nm, Reference wavelength: 500 nm
- Step 3:** Move Cuvette - Move cuvette (In/Out) - **Out** is selected.
- Step 4:** User Request - Text: Please remove cuvette.
- Step 5:** Move Cuvette - Move cuvette (In/Out) - **In** is selected.
- Step 6:** Plate - [GRE96fl] - Greiner 96 Flat Transparent
- Step 7:** Absorbance - Measurement wavelength: 400 nm, Reference wavelength: 500 nm
- Step 8:** Absorbance - Measurement wavelength: 260 nm
- Step 9:** Move Plate - Move plate out

Cuvette	Nécessaire pour la mesure de cuvette
Absorbance strip (cuvette) (Bande d'absorbance [cuvette])	Jusqu'à 4 bandes d'absorbance à longueur d'onde fixe sont autorisées. La longueur d'onde de référence ne peut être sélectionnée que lorsqu'une bande d'absorbance à longueur d'onde fixe est utilisée. Apply blanking (Appliquer blanking) est désactivé lorsqu'une longueur d'onde de référence est sélectionnée. Sélectionnez les paramètres de mesure appropriés (longueur d'onde, nombre de flashes et temps du repos)
Move Cuvette Out (Sortir cuvette)	Le support de cuvette est sorti .
User Request (Demande utilisateur)	La demande utilisateur interrompt la mesure ; par conséquent, elle permet de retirer la cuvette du port de cuvette. Une fois la demande confirmée, la mesure se poursuit.
Move Cuvette In (Rentrer cuvette)	Le port de cuvette est rentré.
Plate (Plaque)	Nécessaire pour les mesures de microplaque. Sélectionnez un type de plaque approprié pour la mesure.
Part of Plate (Partie de la plaque) (non illustrée)	En option. Utilisez la bande part of plate (Partie de la plaque) si une seule partie de la plaque sera mesurée.
Absorbance strip (microplate) (Bande d'absorbance [microplaque])	Jusqu'à 10 bandes d'absorbance à longueur d'onde fixe sont autorisées. Une longueur d'onde de référence n'est autorisée que sur la première bande d'absorbance. La longueur d'onde de référence est désactivée sur les bandes d'absorbance 2 à 10. Sélectionnez les paramètres de mesure appropriés (longueur d'onde, nombre de flashes et temps du repos) pour votre application.
Move Plate (Déplacer la plaque)	En option. Pour sortir automatiquement la microplaque de l'instrument une fois la mesure terminée, sélectionnez Move plate OUT (Sortir la plaque).

4.13 Exemples i-control

Exemple 1 : Essai Dual-Luciferase® (Promega Corp.)

Pour des détails sur l'essai, veuillez consulter le site www.promega.com.










	► Plate	
	Well	
	► Injection	Injector A, Volume: 100, Speed: 200
	► Wait (Timer)	Wait: 00:00:02 (hh:mm:ss)
	► Luminescence (Ratio)	Attenuation: NONE
	► Injection	Injector B, Volume: 100, Speed: 200
	► Wait (Timer)	Wait: 00:00:02 (hh:mm:ss)
	► Luminescence (Ratio)	Attenuation: NONE
	► Move Plate	Move plate out

Plate (Plaque)	Sélectionnez un type de plaque approprié. Pour les mesures de luminescence, des microplaques blanches sont recommandées. Pour cet exemple, une plaque blanche à 96 puits a été sélectionnée.
Part of the plate (Partie de la plaque)	(Non illustrée) ; peut être sélectionnée facultativement si une seule partie de la plaque doit être traitée.
Well (Puits)	Obligatoire pour les mesures avec injection
Injection (1)	L'injecteur A injecte 100 µl à une vitesse de 200 µl/s, mode de remplissage : standard
Wait (Timer) (Attendre [horloge])	Temps d'attente de 2 s
Luminescence (1)	Mesure de luminescence avec temps d'intégration de 10 s, aucune atténuation
Injection (2)	L'injecteur B injecte 100 µl à une vitesse de 200 µl/s, mode de remplissage : standard
Wait (Timer) (Attendre [horloge])	Temps d'attente de 2 s
Luminescence (2)	Mesure de luminescence avec temps d'intégration de 10 s, aucune atténuation
Move Plate (Déplacer la plaque)	La plaque est sortie une fois que tous les puits sont terminés



PRECAUTION

ALLUMER L'INSTRUMENT AU MOINS 15 MINUTES AVANT DE DEMARRER UNE MESURE DE LUMINESCENCE. CERTAINS COMPOSANTS DOIVENT PRECHAUFFER AFIN DE GARANTIR DES CONDITIONS STABLES POUR LA MESURE.

Exemple 2 : Kit de détection de la bioluminescence du système d'essai ATP Enliten® pour ATP (Promega Corp.)

Pour des détails sur l'essai, veuillez consulter le site www.promega.com.







 ▶ Plate	
 Well	
 ▶ Injection	Injector A, Volume: 100, Speed: 100
 ▶ Wait (Timer)	Wait: 00:00:02 (hh:mm:ss)
 ▶ Luminescence (Ratio)	Attenuation: NONE
 ▶ Move Plate	Move plate out

Plate (Plaque)	Sélectionnez un type de plaque approprié. Pour les mesures de luminescence, des microplaques blanches sont recommandées. Pour cet exemple, une plaque blanche à 96 puits a été sélectionnée.
Part of the plate (Partie de la plaque)	(Non illustrée) ; peut être sélectionnée facultativement si une seule partie de la plaque doit être traitée
Well (Puits)	Obligatoire pour les mesures avec injection
Injection	L'injecteur A injecte 100 µl à une vitesse de 100 µl/s, mode de remplissage : standard
Wait (Timer) (Attendre [horloge])	Temps d'attente de 2 s
Luminescence	Mesure de luminescence avec temps d'intégration de 10 s, aucune atténuation
Move Plate (Déplacer la plaque)	La plaque est sortie une fois que tous les puits sont terminés.



PRECAUTION

ALLUMER L'INSTRUMENT AU MOINS 15 MINUTES AVANT DE DEMARRER UNE MESURE DE LUMINESCENCE. CERTAINS COMPOSANTS DOIVENT PRECHAUFFER AFIN DE GARANTIR DES CONDITIONS STABLES POUR LA MESURE.

Exemple 3 : Mesure de sondes sensibles Ca²⁺ – Fura-2









 ▼ Plate	1
Plate definition: [GRE96fb] - Greiner 96 Flat Black	<input type="button" value="Details..."/>
<input type="checkbox"/> Plate with cover	Use a part of the plate
 Well	2
 ▶ Kinetic Cycle	20 cycles
3	
 ▶ Kinetic Condition	Handling for cycle 5
4	
 ▶ Injection	Injector A, Volume: 20, Speed: 200
5	
 ▶ Fluorescence Intensity (Ratio)	Excitation wavelength: 380 nm, Emission wavelength: 510 nm
6	
 ▶ Fluorescence Intensity (Ratio)	Excitation wavelength: 340 nm, Emission wavelength: 510 nm
7	
 ▶ Move Plate	Move plate out
8	

Plate (Plaque)	Sélectionnez un type de plaque approprié. Pour les mesures de fluorescence, des microplaques noires sont recommandées. Pour cet exemple, une plaque noire à 96 puits a été sélectionnée.
Part of the plate (Partie de la plaque)	(Non illustrée) ; peut être sélectionnée facultativement si une seule partie de la plaque doit être traitée
Well (Puits)	Obligatoire pour les mesures avec injection
Kinetic Cycle (Cycle cinétique)	Sélectionnez le nombre de cycles nécessaires
Kinetic condition (Condition cinétique)	Cette bande permet de réaliser des opérations une fois dans une exécution cinétique à un certain cycle. La bande d'injection prévue en dessous n'est traitée qu'une seule fois au cycle sélectionné.
Injection	L'injecteur A injecte 20 µl à une vitesse de 200 µl/s, mode de remplissage : non sélectionnable ; l'injection est réalisée au cycle 5 (défini par la bande de condition cinétique)
Fluorescence Intensity (Intensité de fluorescence) (1)	Sélectionnez les paramètres appropriés pour la première étiquette : Excitation wavelength (Longueur d'onde excitation) : 380 nm, Emission wavelength (Longueur d'onde émission) : 510 nm ; number of flashes (Nombre de flashes) : 25 ; integration time (Temps d'intégration) : 40 ; gain : manual (manuel)
Fluorescence Intensity (Intensité de fluorescence) (2)	Sélectionnez les paramètres appropriés pour la seconde étiquette : Excitation wavelength (Longueur d'onde excitation) : 340 nm, Emission wavelength (Longueur d'onde émission) : 510 nm ; number of flashes (Nombre de flashes) : 25 ; integration time (Temps d'intégration) : 40 ; gain : manual (manuel)
Move Plate (Déplacer la plaque)	La plaque est sortie une fois que tous les puits sont terminés

Exemple 4 : Mesure de sondes sensibles Ca²⁺ – Indo-1









 ▶ Plate	1
 Well	2
 ▶ Kinetic Cycle 20 cycles	3
 ▶ Kinetic Condition Handling for cycle 5	4
 ▶ Injection Injector A, Volume: 20, Speed: 200	5
 ▶ Fluorescence Intensity (Ratio) Excitation wavelength: 340 nm, Emission wavelength: 410 nm	6
 ▶ Fluorescence Intensity (Ratio) Excitation wavelength: 340 nm, Emission wavelength: 480 nm	7
 ▶ Move Plate Move plate out	8

Plate (Plaque)	Sélectionnez un type de plaque approprié. Pour les mesures de fluorescence, des microplaques noires sont recommandées. Pour cet exemple, une plaque noire à 96 puits a été sélectionnée.
Part of the plate (Partie de la plaque)	(Non illustrée) ; peut être sélectionnée facultativement si une seule partie de la plaque doit être traitée
Well (Puits)	Obligatoire pour les mesures avec injection
Kinetic Cycle (Cycle cinétique)	Sélectionnez le nombre de cycles nécessaires
Kinetic condition (Condition cinétique)	Cette bande permet de réaliser des opérations une fois dans une exécution cinétique à un certain cycle. La bande d'injection prévue en dessous n'est traitée qu'une seule fois au cycle sélectionné.
Injection	L'injecteur A injecte 20 µl à une vitesse de 200 µl/s, mode de remplissage : non sélectionnable ; l'injection est réalisée au cycle 5 (défini par la bande de condition cinétique)
Fluorescence Intensity (Intensité de fluorescence) (1)	Sélectionnez les paramètres appropriés pour la première étiquette : Excitation wavelength (Longueur d'onde excitation) : 340 nm, Emission wavelength (Longueur d'onde émission) : 410 nm ; number of flashes (Nombre de flashes) : 25 ; integration time (Temps d'intégration) : 40 ; gain : manual (manuel)
Fluorescence Intensity (Intensité de fluorescence) (2)	Sélectionnez les paramètres appropriés pour la seconde étiquette : Excitation wavelength (Longueur d'onde excitation) : 340 nm, Emission wavelength (Longueur d'onde émission) : 480 nm ; number of flashes (Nombre de flashes) : 25 ; integration time (Temps d'intégration) : 40 ; gain : manual (manuel)
Move Plate (Déplacer la plaque)	La plaque est sortie une fois que tous les puits sont terminés.

4.14 Terminer une session de mesure

4.14.1 Déconnexion de l'instrument

Lors de la déconnexion, la communication entre l'instrument et l'ordinateur est coupée.



Note

Retirer la microplaque et/ou la cuvette avant de déconnecter l'instrument de l'ordinateur.

4.14.2 Arrêt de l'instrument

Lorsque l'instrument est arrêté, son activité est interrompue immédiatement. Normalement, vous devez le déconnecter avant son arrêt. Dans le cas exceptionnel où une erreur matérielle inattendue se produit, l'arrêt immédiat de l'instrument réduit le risque possible de dommages.

5. Fonctionnalités de l'instrument

5.1 Introduction



Note

Toutes les spécifications sont sujettes à modifications sans préavis.

Les types de mesure suivants sont fournis avec le lecteur Infinite entièrement équipé :

Type de mesure	Description
Intensité de fluorescence Haut/Fond	Voir 5.3 Intensité de fluorescence et fluorescence résolue en temps (TRF)
Fluorescence résolue en temps	Voir 5.3 Intensité de fluorescence et fluorescence résolue en temps (TRF)
Polarisation de fluorescence	Voir 5.4 Polarisation de fluorescence (FP) – Infinite F Plex uniquement
Absorbance	Voir 5.5 Absorbance
Luminescence Glow	Voir 5.6 Luminescence Glow
Luminescence couleur dual	Voir 5.8 Luminescence couleur dual (par exemple BRET)
Luminescence Flash	Voir 5.7 Luminescence Flash

Toute microplaque standard de 6 à 384 puits et conforme aux normes suivantes peut être mesurée avec l'un des types de mesure ci-dessus :

- ANSI/SBS 1-2004 ;
- ANSI/SBS 2-2004 ;
- ANSI/SBS 3-2004 et
- ANSI/SBS 4-2004.

L'instrument peut réaliser des mesures cinétiques.

La lecture peut être limitée à une partie de la microplaque.

5.2 Spécifications de l'instrument

Le tableau suivant liste les spécifications techniques de l'instrument :

Paramètres	Caractéristiques
Général	
Mesure	Contrôlée par le logiciel
Interface	USB
Manipulation du filtre :	
Configurations F de l'Infinite	Échange de filtre externe
Configurations M de l'Infinite	Sélection de longueur d'onde avec monochromateur – aucun filtre nécessaire
Microplaques à mesurer	Plaques de 6 à 384 puits (Formats standard SBS)
Définition de plaque	Via logiciel de scan
Contrôle de la température	De 5 °C au-dessus de la température ambiante jusqu'à 42 °C
Agitation de plaque	Agitation linéaire et orbitale, amplitude sélectionnable entre 1 et 6 mm, par pas de 0,5 mm
Source lumineuse	Lampe de flash Xénon à haute énergie, durée de vie : 10 ⁸ flashes
Optique	Lentilles de silice fondue
Détecteurs :	
Fluorescence	PMT spectralement amélioré : PMT sensible au rouge
Luminescence	Tube photomultiplicateur à faibles coups d'obscurité électronique de comptage de photon
Absorbance	Photodiode au silicium
Alimentation secteur	Auto ajustable 100 – 120 V/220 – 240 V, 50-60 Hz
Consommation électrique	150 VA

Paramètres	Caractéristiques	
Physiques		
Dimensions extérieures :		
Instrument de base	Largeur :	425 mm 16,73 pouces
	Hauteur :	253 mm 9,96 pouces
	Profondeur :	457 mm 17,99 pouces
Module de pompage	Largeur :	250 mm 9,84 pouces
	Hauteur :	155 mm 6,10 pouces
	Profondeur :	156 mm 6,14 pouces
Poids :		
Configurations F de l'Infinite	14,0 kg	
Configurations M de l'Infinite	15,8 kg	
Module de pompage	3,4 kg	
Environnementaux		
Température ambiante :		
Fonctionnement	+ 15 °C à + 30 °C	(+ 59 °F à + 86 °F)
Hors fonctionnement	+ 20 °C à + 60 °C	(- 4 °F à + 140 °F)
Humidité relative :		
Fonctionnement	< 80 % sans condensation	
Catégorie de survoltage	II	
Utilisation	Appareil de laboratoire à usage général	
Niveau de bruit	< 60 dBA	
Degré de pollution	2	
Méthode d'élimination	Déchets électroniques (déchets contaminés)	

5.3 Intensité de fluorescence et fluorescence résolue en temps (TRF)

Paramètres	Caractéristiques
Gamme de longueur d'onde - Configurations M de l'Infinite :	Excitation : 230 - 850 nm Émission : 280 - 850 nm
	sélectionnable par pas de 1 nm
Gamme de longueur d'onde - Configurations F de l'Infinite :	Excitation et émission : 230 - 850 nm
Filtre standard :	Non applicable – les instruments sont équipés de filtres définis par l'utilisateur

Réglage du gain	Valeurs	Intervalle de mesure
Manuel	1 - 255	0 - 60 000 RFU
Optimal	automatique	0 - 60 000 RFU
Calculé du puits	automatique	0 - 60 000 RFU

Paramètres TRF	Caractéristiques
Temps d'intégration	10 - 2 000 μ s
Retard	0 - 2 000 μ s

5.3.1 Définition de la limite de détection

La limite de détection est la concentration de fluorophore où le signal soustrait du fond est égal à 3 fois la déviation standard du bruit du fond.

Si vous sélectionnez 1 flash par puits, le porte-plaque ne s'arrête pas à la position de mesure. L'utilisation de plus d'un flash par puits peut améliorer la limite de détection, mais le temps de mesure total est plus long.

5.3.2 Fluorescéine (Intensité de fluorescence) Haut

Type de plaque (nombre de puits)	96
Volume distribué [μ l]	200
Flashes (lectures) par puits	25
Limite de détection de fluorescéine [μ M]	< 20 μ M
Uniformité à 25 nM de fluorescéine	< 3 % CV
Reproductibilité à 25 nM de fluorescéine	< 2 %

5.3.3 Fluorescéine (Intensité de fluorescence) Fond

Type de plaque (nombre de puits)	96
Volume distribué [μ l]	200
Flashes (lectures) par puits	25
Limite de détection de fluorescéine [pM]	100 pM
Uniformité à 25 nM de fluorescéine	< 3 % CV
Reproductibilité à 25 nM de fluorescéine	< 2 %

5.3.4 Europium (Fluorescence résolue en temps)

Type de plaque (nombre de puits)	96
Volume distribué [μ l]	200
Flashes (lectures) par puits	25
Limite de détection d'euporium (configurations F de l'Infinite)	< 150 fM
Limite de détection d'euporium (configurations M de l'Infinite)	< 5 pM (valeur typique)

5.4 Polarisation de fluorescence (FP) – Infinite F Plex uniquement



Note

L'option Polarisation de fluorescence n'est disponible que pour l'Infinite F Plex. Ce module ne peut pas être installé sur d'autres configurations de l'Infinite.

Paramètres	Caractéristiques	
Gamme de longueur d'onde	Excitation : 300 – 850 nm	
	Émission : 330 – 850 nm	
Filtre standard	Configuration du porte-filtres par défaut : Exc 485 (20) nm Position du côté du filtre d'exc. : Exc1 : 485 (20) - parallèle Exc2 : 485 (20) - perpendiculaire Ém 535 (25) nm Position du côté du filtre d'ém. : Ém1 : 535 (25) - parallèle Ém2 : 535 (25) - parallèle	
Réglage du gain	Valeurs	Intervalle de mesure
Manuel	1 - 255	0 - 60 000 RFU
Optimal	automatique	0 - 60 000 RFU
Calculé du puits	automatique	0 - 60 000 RFU
Paramètres FP	Caractéristiques	
Temps d'intégration	20 - 2 000 µs	
Retard	0 - 2 000 µs	
Précision FP (configurations F de l'Infinite uniquement)	< 5 mP à 1 nM de fluorescéine	

5.5 Absorbance

Paramètres	Type d'instrument	Caractéristiques
Gamme de longueur d'onde	Configurations F de l'Infinite	230 – 1 000 nm
	Configurations M de l'Infinite	230 – 1 000 nm aucun filtre nécessaire, sélectionnable par pas de 1 nm
Intervalle de mesure	Les deux	0 – 4 DO

Les spécifications suivantes sont valides pour la gamme de longueur d'onde de 300 – 700 nm pour les configurations de l'Infinite.

Type de plaque (nombre de puits)	96
Exactitude 0 – 2 DO	$< \pm (1 \% + 10 \text{ mDO})$
Exactitude 2 – 3 DO	$< \pm 2,5 \%$
Planéité de base	$\pm 10 \text{ mDO (1 sigma)}$
Configurations M de l'Infinite	
Exactitude de la longueur d'onde	$\leq \pm 1,5 \text{ nm } \lambda > 315 \text{ nm ;}$ $\leq \pm 0,8 \text{ nm } \lambda \leq 315 \text{ nm}$
Configurations F de l'Infinite	
Exactitude de la longueur d'onde	Dépend des filtres utilisés

Les spécifications sont valides pour des mesures réalisées avec 25 flashes (lectures) par puits.

5.6 Luminescence Glow



PRECAUTION

ALLUMER L'INSTRUMENT AU MOINS 15 MINUTES AVANT DE DEMARRER UNE MESURE DE LUMINESCENCE. CERTAINS COMPOSANTS DOIVENT PRECHAUFFER AFIN DE GARANTIR DES CONDITIONS STABLES POUR LA MESURE.

La détection de la luminescence utilise la technique de comptage de photon.

Paramètres	Caractéristiques
Gamme de longueur d'onde	380 – 600 nm
Plage dynamique linéaire	6 ordres de grandeur
Temps d'intégration/puits	100 – 20 000 ms
% diaphonie (plaque noire)	< 0,01 %
Intervalle de mesure	> 6 ordres de grandeur 8 ordres de grandeur (plage dynamique étendue)
Atténuation de la lumière	100 (filtre d'atténuation DO2), 1 (pas d'atténuation)

5.6.1 Luminescence Glow ATP

Type de plaque (nombre de puits)	96
Volume total distribué [µl]	200
Temps d'intégration/puits [ms]	1 000
Limite de détection ATP	3 fmol/puits



PRECAUTION

LES SPECIFICATIONS NE SONT VALIDES QUE SI L'INSTRUMENT EST INSTALLE DANS UN ENDROIT OU L'ECLAIRAGE EST < 500 LUX.

5.7 Luminescence Flash



PRECAUTION

ALLUMER L'INSTRUMENT AU MOINS 15 MINUTES AVANT DE DEMARRER UNE MESURE DE LUMINESCENCE. CERTAINS COMPOSANTS DOIVENT PRECHAUFFER AFIN DE GARANTIR DES CONDITIONS STABLES POUR LA MESURE.

La détection de la luminescence utilise la technique de comptage de photon.

Paramètres	Caractéristiques
Gamme de longueur d'onde	380 – 600 nm
Intervalle de mesure	> 6 ordres de grandeur 8 ordres de grandeur (plage dynamique étendue)
Temps d'intégration/puits	100 – 20 000 ms
% diaphonie (plaque noire)	< 0,01 %
Atténuation de la lumière	100 (filtre d'atténuation DO2), 1 (pas d'atténuation)
Limite de détection ATP	< 80 amol/puits



PRÉCAUTION

LES SPECIFICATIONS NE SONT VALIDES QUE SI L'INSTRUMENT EST INSTALLE DANS UN ENDROIT OU L'ECLAIRAGE EST < 500 LUX.

5.8 Luminescence couleur dual (par exemple BRET)



PRECAUTION

ALLUMER L'INSTRUMENT AU MOINS 15 MINUTES AVANT DE DEMARRER UNE MESURE DE LUMINESCENCE. CERTAINS COMPOSANTS DOIVENT PRECHAUFFER AFIN DE GARANTIR DES CONDITIONS STABLES POUR LA MESURE.

Paramètres	Caractéristiques
Longueur d'onde intégrée :	Voir 2.5.4 Système d'absorbance (configurations F de l'Infinite).
Temps d'intégration :	100 - 20 000 ms. Différents temps d'intégration sont possibles pour chaque longueur d'onde.
Type de plaque :	Microplaques à 96 et 384 puits
Plage dynamique	6 décades

5.9 Mesures « sur le champ »

Les mesures **sur le champ** sont les mesures les plus rapides possibles réalisées à l'aide du lecteur Infinite. Ces mesures sont effectuées en utilisant un seul flash (nombre de flashes).

Plaques à 96 puits (FI, TRF, Absorbance) Temps de mesure : < 20 s

Plaques à 384 puits (FI, TRF, Absorbance) Temps de mesure : < 30 s

(Mouvement de rentrée/sortie de plaque non inclus).

5.10 Fonctionnalités de cuvette (configurations M de l'Infinite uniquement)



Note

L'option Cuvette n'est disponible que pour les configurations M de l'Infinite. Ce module ne peut pas être installé dans une configuration F de l'Infinite.

L'option cuvette permet de réaliser une mesure d'absorbance en mode longueur d'onde fixe et scan.

Paramètres	Caractéristiques
Gamme de longueur d'onde	230 – 1 000 nm (aucun filtre nécessaire, sélectionnable par pas de 1 nm)
Intervalle de mesure	0 – 4 DO

5.10.1 Spécifications de la cuvette

Les spécifications suivantes sont valides pour la gamme de longueur d'onde de 300-700 nm, nombre de flashes 25 :

Cuvette	Hellma 110-QS, 10 mm
Exactitude 0 – 2 DO	< ± (1 % + 18 mDO)
Exactitude 2 – 3 DO	< ± 2,5 %
Reproductibilité 0 – 2 DO	< ± (1 % + 10 mDO)
Reproductibilité 2 – 3 DO	< ± 2,5 %
Linéarité 0 – 2 DO	R ² > 0,998
Planéité de base	± 10 mDO (1 sigma)



PRECAUTION

LE PORT DE CUVETTE D'UNE CONFIGURATION M DE L'INFINITE NE PEUT PAS ETRE UTILISE POUR DES CUVETTES AVEC UNE FENETRE DE MESURE < 2 MM (DIAMETRE) ET UNE HAUTEUR AU CENTRE INFÉRIEURE A 15 MM.

5.11 Spécifications de l'injecteur

Paramètres	Caractéristiques
Exactitude	< 10 % pour un volume d'injection de 10 µl
	< 2 % pour un volume d'injection de 100 µl
	< 0,7 % pour un volume d'injection de 450 µl
Précision	< 10 % pour un volume d'injection de 10 µl
	< 2 % pour un volume d'injection de 100 µl
	< 0,7 % pour un volume d'injection de 450 µl

5.11.1 Compatibilité avec les réactifs de l'injecteur

Le système d'injecteur des configurations F de l'Infinite et des configurations M de l'Infinite se compose des matériaux suivants :

- Teflon (PTFE) : tubulure, clapet de soupape, joint
- KelF : corps de soupape
- SC05 : aiguilles d'injecteur

Veuillez vous reporter à la liste suivante pour connaître la compatibilité avec les réactifs. La classification **A** indique une bonne compatibilité avec le système d'injecteur. Les produits chimiques de classe **D** ne doivent pas être utilisés avec les injecteurs Infinite. Ils endommageront gravement le système d'injecteur.

Produits chimiques de classe A	Produits chimiques de classe D
Acide acétique < 60 %	Butylamine
Acétonitrile	Tétrachlorure de carbone (sec)
Chloroforme	Éther diéthylique
Diméthylformamide	Éthanolamine
Éthanol	Éthylène diamine
Hexane	Furfural
Méthanol (alcool méthylique)	Acide fluorhydrique
Acide sulfurique, dilué (Concentration ≤ 1 N)	Monoéthanolamine
Tétrahydrofurane	Hydroxyde de potassium (potasse caustique)
Eau, déionisée	Hypochlorite de sodium
Eau, distillée	Hydroxyde de sodium
Eau, douce	Hypochlorite de sodium
	Acide sulfurique concentré

**PRÉCAUTION**

LES INFORMATIONS DANS CE TABLEAU ONT ÉTÉ FOURNIES À TECAN AUSTRIA PAR DES SOURCES FIABLES ET ELLES DOIVENT SERVIR UNIQUEMENT DE GUIDE POUR LA SÉLECTION D'ÉQUIPEMENT AFIN DE GARANTIR UNE COMPATIBILITÉ CHIMIQUE APPROPRIÉE. AVANT UNE INSTALLATION DÉFINITIVE, TESTEZ L'ÉQUIPEMENT AVEC LES PRODUITS CHIMIQUES ET DANS LES CONDITIONS SPÉCIFIQUES DE VOTRE APPLICATION.

**AVERTISSEMENT**

LES VARIATIONS DE COMPORTEMENT DES PRODUITS CHIMIQUES PENDANT LA MANIPULATION, LESQUELLES SONT DUES À DES FACTEURS TELS QUE LA TEMPÉRATURE, LA PRESSION ET LA CONCENTRATION PEUVENT ENTRAÎNER DES DÉFAILLANCES DE L'ÉQUIPEMENT, MÊME SI LES COMPOSANTS INDIVIDUELS DU SYSTÈME D'INJECTEUR ONT RÉUSSI LE TEST INITIAL. DE GRAVES BLESSURES PEUVENT EN RÉSULTER. UTILISER DES DISPOSITIFS DE PROTECTION ET/OU UN ÉQUIPEMENT DE PROTECTION INDIVIDUELLE ADAPTÉS LORS DE LA MANIPULATION DE PRODUITS CHIMIQUES.

5.12 Accessoires de mesure

5.12.1 *Filtres recommandés (configurations F de l'Infinite uniquement)*

Veillez vous adresser à votre distributeur Tecan local pour un set de filtres recommandé. Les filtres conçus pour un type d'instrument différent ne fonctionneront pas nécessairement de manière optimale avec les configurations F de l'Infinite.

**Note**

Si l'excitation et l'émission maximales d'une espèce fluorescente sont proches, elles ne doivent pas être directement converties en longueurs d'onde centrales pour les filtres de fluorescence.

Afin de fournir un fond acceptable, d'une part la limite supérieure pour les longueurs d'onde d'excitation, et d'autre part la limite inférieure pour les longueurs d'onde d'émission doivent être généralement séparées. Ce compromis dépend des propriétés de blocage des filtres. Pour de nombreuses molécules fluorescentes, le signal peut être amélioré par la bande passante du filtre à l'écart de l'autre longueur d'onde centrale.

5.12.2 Types recommandés de microplaques



PRÉCAUTION

POUR EVITER L'ENDOMMAGEMENT DE L'INSTRUMENT ET UN DEVERSEMENT D'ECHANTILLON, S'ASSURER QUE LE TYPE DE MICROPLAQUE A UTILISER POUR LA MESURE CORRESPOND AU FICHIER DE DEFINITION DE PLAQUE SELECTIONNE (PDFX).

Généralement, en cas de haute sensibilité à la fluorescence, des microplaques noires sont recommandées. Pour des faibles concentrations de marqueurs TRF, des microplaques blanches semblent mieux adaptées. Vous pouvez vérifier si les plaques blanches sont meilleures avec des longueurs d'onde d'excitation UV.

Nous ne recommandons pas l'utilisation de volumes inférieurs à un tiers du volume maximum. Si des volumes inférieurs sont utilisés, vérifier si un type de plaque approprié est disponible.

Afin de garantir des performances optimales pour la lecture de fluorescence du fond, nous recommandons l'utilisation de plaques noires avec un fond transparent.

Toute microplaque standard de 6 à 384 puits (hauteur de plaque maximum de 23 mm avec couvercle) et conforme aux normes suivantes peut être mesurée :

- ANSI/SBS 1-2004,
- ANSI/SBS 2-2004 ;
- ANSI/SBS 3-2004 et
- ANSI/SBS 4-2004.

Lors de l'installation du logiciel d'exploitation (i-control ou Magellan), des fichiers de définition de plaque prédéfinis sont installés. Veuillez vous reporter à la liste suivante pour connaître les numéros de commande correspondants des microplaques. Veuillez commander des microplaques auprès de votre fournisseur local de microplaques.

Fabricant / Nom du Pdfx	N° de catégorie		Numéro de tracé :
Greiner			
GRE6ft	657 160	657 185	AC-9909
GRE12ft	665 180	665 102	AC-9910
GRE24ft	662 160	662 102	AC-9911
GRE48ft	677 180	677 102	AC-9912
GRE96ft	655 101	655 161	AC-9701
GRE96fb_chimney	655 079 655 086	655 077 655 076	AC-65507x
GRE96fw_chimney	655 073 655 083	655 074 655 075	AC-65507x
GRE96ut	650 101 650 161 650 160	650 180 650 185	AC-6501xx
GRE96vt	651 101 651 161	651 160 651 180	AC-6511xx
GRE384fb	781 079	781 076	AC-0205

Fabricant / Nom du Pdfx	N° de catégorie		Numéro de tracé :
	781 086	781 094	
	781 077	781 095	
GRE384ft	781 061	781 186	AC-0205
	781 101	781 165	
	781 162	781 182	
	781 185		
GRE384fw	781 073	781 075	AC-0205
	781 080	781 097	
	781 074	781 096	
GRE384sb	784 209		AC-8808
GRE384st	784 201		AC-8808
GRE384sw	784 207		AC-8808
GRE96ft_demi-zone	675 161	675 801	AC-675801
	675 101		
GRE96fw_demi-zone	675 074	675 094	AC-675801
	675 075	675 095	
GRE96fb_demi-zone	675 077	675 097	AC-675801
	675 076	675 096	
Corning			
COS6ft	3506	3516	DWG00673
COS12ft	3512	3513	DWG00674
COS24ft	3524	3527	DWG01261
	3526		
COS48ft	3548		DWG00676
COS96fb	3916	3925	DWG00120
	3915		
COS96ft	3370	3628	DWG00120
COS96fw	3362	3922	DWG00120
	3912		
COS96rt	3360	3795	DWG01123
	3367	3358	
	3788		
COS96ft_demi-zone	3690	3697	DWG00122
	3695		
COS384fb	3708	3710	DWG00679
	3709		
COS384ft	3680	3701	DWG00679
	3700	3702	
COS384fw	3703	3705	DWG00679
	3704		

Fabricant / Nom du Pdfx	N° de catégorie		Numéro de tracé :
COR96fb fond transparent	3631		DWG00678
COR96fw fond transparent	3632		DWG00678
COR96fb demi-zone	3694		DWG00123
COR96fw demi-zone	3693		DWG00123
COR96fb demi-zone fond transparent	3880		DWG01471
COR96fw demi-zone fond transparent	3883		DWG01471
COR96fc transparente aux UV	3635		DWG00678
COR96fc demi-zone transparente aux UV	3679		DWG00678
COR384fb fond transparent	3711		DWG00682
COR384fw fond transparent	3706		DWG00682
COR384fc transparente aux UV	3675		DWG01479
Nunclon			
NUN96ft	439 454 442 404 475 094	269 620 269 787	MTP-0001
NUN384ft	242 765 242 757 164 688	464 718 265 196	MTP-0002
NUN384fb	264 556 164 564	460 518	MTP-0002
NUN384fw	264 572 164 610	460 372	MTP-0002
NUN96ut	143 761 163 320 262 170	262 162 475 434 449 824	MTP-0003
NUN96fb_LumiNunc FluoroNunc	137 101 137 103 237 105 237 107	237 108 437 111 437 112	MTP-0004
NUN96fw_LumiNunc FluoroNunc	136 101 136 102 236 105 236 107	236 108 436 110 436 111	MTP-0004
BD Falcon			
BD24_FluoroBlok	351155 351156	351157 351158	MTP-0005
BD96_FluoroBlok	351161	351163	MTP-0006

Fabricant / Nom du Pdfx	N° de catégorie	Numéro de tracé :
	351162 351164	
Tecan		
TEC96fb : Tecan 96 noire à fond plat	30122298	—
TEC384fb : Tecan 384 noire à fond plat	30122299	—
TEC96fw : Tecan 96 blanche à fond plat	30122300	—
TEC384fw : Tecan 384 blanche à fond plat	30122301	—
TEC24ft_cell : Tecan 24 culture cellulaire, transparente à fond plat	30122302	—
TEC48ft_cell : Tecan 48 culture cellulaire, transparente à fond plat	30122303	—
TEC96ft_cell : Tecan 96 culture cellulaire, transparente à fond plat	30122304	—
TEC384ft_cell : Tecan 384 culture cellulaire, transparente à fond plat	30122305	—
TEC96fb_cell_clear : Tecan 96 culture cellulaire noire, transparente à fond plat	30122306	—
TEC384fb_cell_clear : Tecan 384 culture cellulaire noire, transparente à fond plat	30122307	—
NanoQuantPlate	—	MTP-0007
PerkinElmer		
PE96fw_OptiPlate	6005290	http://www.perkinelmer.com/Catalog/Product/ID/6005290
PE96fw_ProxiPlate	6006290	http://www.perkinelmer.com/Catalog/Product/ID/6006290
PE384fg_AlphaPlate	6008350	TechnicalDataSheet_DimensionsOfProxiplate-384Plus
PE384fg_ProxiPlate	6008270	
PE384fw_ProxiPlate	6008280	
PE384fw_OptiPlate	6008290	TechnicalDrawing2: Les dimensions s'appliquent à des OptiPlates à 384 puits

Tableau 1 : Fichiers de définition de plaque et numéros de catalogue correspondants

5.12.3 Détection de la luminescence



PRECAUTION

ALLUMER L'INSTRUMENT AU MOINS 15 MINUTES AVANT DE DEMARRER UNE MESURE DE LUMINESCENCE. CERTAINS COMPOSANTS DOIVENT PRECHAUFFER AFIN DE GARANTIR DES CONDITIONS STABLES POUR LA MESURE.

Le système de détection de la luminescence du lecteur Infinite utilise la technique de mesure de comptage de photon unique. Elle se base sur un PMT de luminescence spécial avec circuit de mesure correspondant. Cette technique est très stable par rapport au bruit. Elle est la méthode privilégiée pour réaliser des mesures de niveaux de luminosité très faibles.

Pour de meilleures performances, il est recommandé d'utiliser des plaques blanches pour les mesures de luminescence. Pour plus de détails, voir 4.9 Optimisation des mesures de luminescence.



Note

Les résultats des mesures de luminescence sont toujours affichés en décomptes par seconde (cps).



PRECAUTION

L'INSTRUMENT DOIT ETRE INSTALLE A UN EMPLACEMENT ELOIGNE DE LA LUMIERE DIRECTE DU SOLEIL. UN ECLAIRAGE > 500 LUX PEUT AVOIR UNE INFLUENCE NEGATIVE SUR LES MESURES DE LUMINESCENCE.

6. Contrôle qualité

6.1 Tests périodiques de contrôle qualité

Selon l'usage et l'application, nous recommandons une évaluation périodique de l'instrument par Tecan Austria.

Les tests décrits dans les sections suivantes ne remplacent pas une évaluation complète par le fabricant ou les distributeurs agréés. Les tests peuvent toutefois être effectués périodiquement par l'utilisateur afin de vérifier les aspects importants des performances de l'instrument.

Les résultats sont fortement influencés par les erreurs de pipetage et le réglage des paramètres de l'instrument ; par conséquent, suivre attentivement les instructions. L'utilisateur doit déterminer les intervalles appropriés pour ce test en fonction de la fréquence d'utilisation de l'instrument.

Nous recommandons d'adapter ces tests et les critères d'acceptation à l'application principale du laboratoire. Idéalement, ces tests doivent être réalisés avec les plaques, le fluorophore, les tampons, les volumes et tous les paramètres correspondants (filtres, flashes, retards, etc.) propres au laboratoire.



PRECAUTION

AVANT DE COMMENCER LES MESURES, S'ASSURER QUE LA POSITION A1 DE LA MICROPLAQUE EST INSEREE CORRECTEMENT. LE PUIXS A1 DE LA PLAQUE DOIT SE TROUVER EN HAUT A GAUCHE.



PRECAUTION

CES INSTRUCTIONS EXPLIQUENT COMMENT VERIFIER LES SPECIFICATIONS DE L'INSTRUMENT. SI LES RESULTATS DE CES TESTS DE CONTROLE NE SONT PAS CONFORMES AUX SPECIFICATIONS OFFICIELLES DE L'INSTRUMENT, CONTACTER LE CENTRE DE SERVICE LE PLUS PROCHE.

6.2 Spécifications - Critères d'acceptation/échec



Note

Toutes les spécifications sont sujettes à modifications sans préavis.

Le tableau suivant fournit un aperçu des critères d'acceptation/échec pour le test des spécifications du lecteur Infinite.

Spécifications	Critères d'acceptation/échec
Sensibilité de la fluorescence du haut	< 20 pM de fluorescéine
Uniformité de la fluorescence du haut	< 3 % CV
Précision de la fluorescence du haut	< 2 % CV
Sensibilité de la fluorescence du fond	100 pM
Uniformité de la fluorescence du fond	< 3 % CV
Précision de la fluorescence du fond	< 2 % CV
Sensibilité de la fluorescence résolue en temps (configurations F de l'Infinite uniquement)	< 150 fM (avec miroir dichroïque 510) < 3 pM (avec miroir à 50 %)
Précision de la fluorescence résolue en temps (configurations F de l'Infinite uniquement)	< 2 % CV
Précision FP (configurations F de l'Infinite uniquement)	< 5 mP
Sensibilité de la luminescence Glow	< 3 fmol/puits
Sensibilité de la luminescence Flash	< 80 amol/puits
Exactitude de l'absorbance	0 – 2 DO : $\leq \pm 1 \% + 10 \text{ mDO}$ 2 – 3 DO : $\leq \pm 2,5 \%$
Planéité de base de l'absorbance (1 sigma)	< $\pm 10 \text{ mDO}$
Exactitude de la longueur d'onde d'absorbance	$\leq \pm 1,5 \text{ nm } \lambda > 315 \text{ nm}$; $\leq \pm 0,8 \text{ nm } \lambda \leq 315 \text{ nm}$
Spécifications de la cuvette (configurations M de l'Infinite uniquement)	Critères d'acceptation/échec
Exactitude de l'absorbance	0 – 2 DO : $\leq \pm 1 \% + 10 \text{ mDO}$ 2 – 3 DO : $\leq \pm 2,5 \%$
Planéité de base de l'absorbance (1 sigma)	< $\pm 10 \text{ mDO}$

6.3 Spécifications - Instructions de test

6.3.1 Fluorescence du haut

Pour le lecteur Infinite avec l'option **Fluorescence Top** (Fluorescence haut), les tests suivants peuvent être réalisés pour démontrer les spécifications :

- Sensibilité
- Uniformité
- Précision

Ces instructions de test sont valides pour le lecteur Infinite :

- Configurations F de l'Infinite
- Configurations M de l'Infinite
- Version spectralement améliorée

Sensibilité

Réalisez la mesure suivante pour déterminer la limite de détection pour la fluorescéine :

Paramètres de mesure :

Paramètre	Réglage
Mode de lecture	Fluorescence haut
Longueur d'onde d'excitation	Configurations F de l'Infinite : 485 (20) nm Configurations M de l'Infinite : 485 nm
Longueur d'onde Ém	Configurations F de l'Infinite : 535 (25) nm Configurations M de l'Infinite : 535 nm
Nombre de flashes	25
Temps d'intégration	40
Temps du repos	0
Gain	Optimal
Type de plaque	GRE96fb

Schéma de la plaque :

Pipeter 200 µl de solution de fluorescéine à 1 nM ou de solution témoin (0,01 M de NaOH) dans les puits appropriés selon le schéma de la plaque :

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Matériel/Réactifs :

- 1 nM de fluorescéine (dans 0,01 M de NaOH) (Fluorescéine sel de sodium, Sigma F6377)
- 0,01 M de NaOH (=Blanc) (granulés NaOH, réf. Merck 6495 ou Sigma S8045)
- 1 plaque Greiner à 96 puits, noire
- Pipette de 200 µl + pointes

Calcul de la limite de détection (sensibilité) :

$$\text{Detection Limit} = \frac{\text{Concentration}_F}{(\text{mean}_F - \text{mean}_B)} * 3 * \text{Stdev}_B$$

Concentration _F	Concentration du fluorophore en unités pM
mean _F	Valeur RFU moyenne des puits remplis de fluorophore
mean _B	Valeur RFU moyenne des puits remplis de blanc
stdev _B	Déviat ion standard des valeurs RFU des puits remplis de blanc

Le résultat de la formule **Limite de détection** détermine la sensibilité en unités pM.

Uniformité

Réalisez la mesure suivante pour déterminer l'**uniformité** :

Paramètres de mesure :

Paramètre	Réglage
Mode de lecture	Fluorescence haut
Longueur d'onde d'excitation	Configurations F de l'Infinite : 485 (20) nm Configurations M de l'Infinite : 485 nm
Longueur d'onde Ém	Configurations F de l'Infinite : 535 (25) nm Configurations M de l'Infinite : 535 nm
Nombre de flashes	25
Temps d'intégration	40
Temps du repos	0
Gain	Optimal
Type de plaque	GRE96fb

Schéma de la plaque :

Pipeter 200 µl de solution de fluorescéine à 1 nM ou de solution témoin (0,01 M de NaOH) dans les puits appropriés selon le schéma de la plaque :

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Matériel/Réactifs :

- 1 nM de fluorescéine (dans 0,01 M de NaOH) (Fluorescéine sel de sodium, Sigma F6377)
- 0,01 M de NaOH (=Blanc) (granulés NaOH, réf. Merck 6495 ou Sigma S8045)
- 1 plaque Greiner à 96 puits, noire
- Pipette de 200 µl + pointes

Calcul de l'uniformité :

$$\text{Uniformity (\%)} = \frac{\text{stdev}_F * 100}{\text{mean}_F}$$

mean _F	Valeur RFU moyenne des puits remplis de fluorophore
stdev _F	Déviati on standard des valeurs RFU des puits remplis de fluorophore

Le résultat de la formule détermine l'uniformité en % CV.

Précision

Réalisez la mesure suivante pour déterminer la précision/reproductibilité :

Paramètres de mesure :

Paramètre	Réglage
Mode de lecture	Fluorescence haut
Longueur d'onde d'excitation	Configurations F de l'Infinite : 485 (20) nm Configurations M de l'Infinite : 485 nm
Longueur d'onde Ém	Configurations F de l'Infinite : 535 (25) nm Configurations M de l'Infinite : 535 nm
Nombre de flashes	25
Temps d'intégration	40
Temps du repos	0
Gain	Optimal
Type de plaque	GRE96fb
Partie de la plaque	A1
Cinétique	20 cycles
Temps interne	Minimal

Schéma de la plaque :

Pipeter 200 µl de solution de fluorescéine à 1 nM ou de solution témoin (0,01 M de NaOH) dans les puits appropriés selon le schéma de la plaque :

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Matériel/Réactifs :

1 nM de fluorescéine (dans 0,01 M de NaOH) (Fluorescéine sel de sodium, Sigma F6377)
 0,01 M de NaOH (=Blanc) (granulés NaOH, réf. Merck 6495 ou Sigma S8045)
 1 plaque Greiner à 96 puits, noire
 Pipette de 200 µl + pointes

Calcul de la précision :

$$\text{Précision (CV\%)} = \frac{\text{stdev}_{\text{wellA1}} * 100}{\text{mean}_{\text{wellA1}}}$$

mean _{puitsA1}	Valeur RFU moyenne du puits A1 sur la cinétique de 20 cycles
stdev _{puitsA1}	Déviati on standard des valeurs RFU du puits A1 sur les 20 cycles

Le résultat de la formule détermine la précision en % CV.

6.3.2 Fluorescence du fond

Pour le lecteur Infinite avec l'option **Fluorescence Bottom** (Fluorescence fond), les tests suivants peuvent être réalisés pour démontrer les spécifications :

- Sensibilité
- Uniformité
- Précision/Répétabilité

Ces instructions de test sont valides pour le lecteur Infinite :

- Configurations F de l'Infinite
- Configurations M de l'Infinite
- Version spectralement améliorée

Sensibilité

Réalisez la mesure suivante pour déterminer la limite de détection pour la fluorescéine :

Paramètres de mesure :

Paramètre	Réglage
Mode de lecture	Fluorescence fond
Longueur d'onde d'excitation	Configurations F de l'Infinite : 485 (20) nm Configurations M de l'Infinite : 485 nm
Longueur d'onde Ém	Configurations F de l'Infinite : 535 (25) nm Configurations M de l'Infinite : 535 nm
Nombre de flashes	25
Temps d'intégration	40
Temps du repos	0
Gain	Optimal
Type de plaque	GRE96fb

Schéma de la plaque

Pipeter 200 µl de solution de fluorescéine à 25 nM ou de solution témoin (0,01 M de NaOH) dans les puits appropriés selon le schéma de la plaque :

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc
B												
C												
D												
E												
F												
G	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc
H												

Matériel/Réactifs :

25 nM de fluorescéine (dans 0,01 M de NaOH) (Fluorescéine sel de sodium, Sigma F6377)
 0,01 M de NaOH (=Blanc) (granulés NaOH, réf. Merck 6495 ou Sigma S8045)
 1 plaque Greiner µClear à 96 puits, noire avec fond transparent
 Pipette de 200 µl + pointes

Calcul de la limite de détection (sensibilité) :

Voir 6.3.1 Fluorescence du haut : Sensibilité.

Uniformité

Réalisez la mesure suivante pour déterminer l'uniformité :

Paramètres de mesure :

Paramètre	Réglage
Mode de lecture	Fluorescence fond
Longueur d'onde d'excitation	Configurations F de l'Infinite : 485 (20) nm Configurations M de l'Infinite : 485 nm
Longueur d'onde Ém	Configurations F de l'Infinite : 535 (25) nm Configurations M de l'Infinite : 535 nm
Nombre de flashes	25
Temps d'intégration	40
Temps du repos	0
Gain	Optimal
Type de plaque	GRE96fb

Schéma de la plaque :

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Volume de remplissage : 200 µl

Matériel/Réactifs :

25 nM de fluorescéine (dans 0,01 M de NaOH) (Fluorescéine sel de sodium, Sigma F6377)
 0,01 M de NaOH (=Blanc) (granulés NaOH, réf. Merck 6495 ou Sigma S8045)
 1 plaque Greiner µClear à 96 puits, noire avec fond transparent
 Pipette de 200 µl + pointes

Calcul de l'uniformité :

Voir 6.3.1 Fluorescence du haut : Uniformité.

Précision

Réalisez la mesure suivante pour déterminer la précision/reproductibilité :

Paramètres de mesure :

Paramètre	Réglage
Mode de lecture	Fluorescence fond
Longueur d'onde d'excitation	Configurations F de l'Infinite : 485 (20) nm Configurations M de l'Infinite : 485 nm
Longueur d'onde Ém	Configurations F de l'Infinite : 535 (25) nm Configurations M de l'Infinite : 535 nm
Nombre de flashes	25
Temps d'intégration	40
Temps du repos	0
Gain	Optimal
Type de plaque	GRE96fb
Partie de la plaque	A1
Cinétique	20 cycles
Temps interne	Minimal

Schéma de la plaque :

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc	Fluorescéine à 25 nM	Blanc
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Volume de remplissage : 200 µl

Matériel/Réactifs :

25 nM de fluorescéine (dans 0,01 M de NaOH) (Fluorescéine sel de sodium, Sigma F6377)
 0,01 M de NaOH (=Blanc) (granulés NaOH, réf. Merck 6495 ou Sigma S8045)
 1 plaque Greiner µClear à 96 puits, noire avec fond transparent
 Pipette de 200 µl + pointes

Calcul de la précision :

Voir 6.3.1 Fluorescence du haut : Précision.

6.3.3 Fluorescence résolue en temps

Pour le lecteur Infinite avec l'option **Fluorescence Top** (Fluorescence haut), les tests suivants peuvent être réalisés pour démontrer les spécifications :

- Sensibilité
- Précision/Répétabilité

Ces instructions de test sont valides pour les configurations F de l'Infinite.

Sensibilité

Réalisez la mesure suivante pour déterminer la sensibilité :

Paramètres de mesure :

Paramètre	Réglage
Mode de lecture	Fluorescence haut
Longueur d'onde d'excitation	Configurations F de l'Infinite : 340 (35) nm Configurations M de l'Infinite : 340 nm
Longueur d'onde Ém	Configurations F de l'Infinite : 612 (10) nm Configurations M de l'Infinite : 617 nm
Nombre de flashes	25
Temps d'intégration	400
Retard	100
Temps du repos	0
Gain	Optimal
Type de plaque	GRE96fw

Schéma de la plaque :

Pipeter 200 µl de solution d'euprium à 1 nM ou de solution témoin (solution d'amélioration) dans les puits appropriés selon le schéma de la plaque :

<>	1	2	3	4	5	...
A	Euprium à 1 nM	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	
B						
C						
D						
E						
F						
G						
H						

Matériel/Réactifs :

- Euprium à 1 nM (B119-100, HVD Live Sciences)
- Solution d'amélioration (Blanc) (1244-105, HVD Live Sciences)
- 1 plaque Greiner à 96 puits, blanche
- Pipette de 200 µl + pointes

Calcul de la limite de détection (sensibilité) :

Voir 6.3.1 Fluorescence du haut : Sensibilité.

Précision

Réalisez la mesure suivante pour déterminer la précision/reproductibilité :

Paramètres de mesure :

Paramètre	Réglage
Mode de lecture	Fluorescence haut
Longueur d'onde d'excitation	Configurations F de l'Infinite : 340 (35) nm Configurations M de l'Infinite : 340 nm
Longueur d'onde Ém	Configurations F de l'Infinite : 612 (10) nm Configurations M de l'Infinite : 617 nm
Nombre de flashes	25
Temps d'intégration	400
Retard	100
Temps entre déplacement et flash	0
Gain	Optimal
Type de plaque	GRE96fw
Partie de la plaque	A1
Cinétique	20 cycles
Temps interne	Minimal

Schéma de la plaque :

Voir 6.3.3 Fluorescence résolue en temps Précision.

Calcul de la précision :

Voir 6.3.1 Fluorescence du haut : Précision.

6.3.4 Polarisation de fluorescence (Infinite F Plex uniquement)

Pour l'Infinite F Plex avec l'option **Fluorescence Polarization** (Polarisation de fluorescence), les tests suivants peuvent être réalisés pour démontrer les spécifications :

- Précision/Répétabilité

Ces instructions de test sont valides pour l'Infinite F Plex uniquement :

- Version spectralement améliorée

Précision

Réalisez la mesure suivante pour déterminer la précision :

Paramètres de mesure :

Paramètre	Réglage
Mode de lecture	Polarisation de fluorescence
Longueur d'onde d'excitation	485 (20) nm
Longueur d'onde Ém	535 (25) nm
Nombre de flashes	25
Temps d'intégration	40
Retard	0
Temps entre déplacement et lecture	0
Gain	Optimal
Type de plaque	GRE96fb
Référence de/à	A1 – D1
Blanc de référence de/à	A2 – D2
Valeur de référence	20 mP
Blanc de mesure de/à	identique au blanc de référence

Schéma de la plaque :

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc	Fluorescéine à 1 nM	Blanc
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Volume de remplissage : 200 µl/puits

Matériel/Réactifs :

1 nM de fluorescéine (dans 0,01 M de NaOH) (Fluorescéine sel de sodium, Sigma F6377)

0,01 M de NaOH (=Blanc) (granulés NaOH, réf. Merck 6495 ou Sigma S8045)

1 plaque Greiner à 96 puits, noire, à fond plat

Pipette de 200 µl + pointes

Calcul de la précision :

La précision est calculée à partir des puits remplis de fluorescéine. La précision correspond à une fois la déviation standard des valeurs mP des puits de fluorescéine.

6.3.5 Luminescence Glow

Pour le lecteur Infinite avec l'option **Luminescence**, les tests suivants peuvent être réalisés pour démontrer les spécifications :

Sensibilité

Réalisez la mesure suivante pour déterminer la sensibilité :

Paramètres de mesure :

Paramètre	Réglage
Mode de lecture	Luminescence
Temps d'intégration	1 000 ms
Temps du repos	0
Type de plaque	GRE96fw
Partie de la plaque	A1 – D10

Schéma de la plaque :

Pipeter 200 µl de solution de réactifs ATP dans les puits appropriés selon le schéma de la plaque :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Bx	ATP	Bx	B	B	B	B	B	B	B		
B	Bx	ATP	Bx	B	B	B	B	B	B	B		
C	Bx	ATP	Bx	B	B	B	B	B	B	B		
D	Bx	ATP	Bx	B	B	B	B	B	B	B		
E												
F												
G												
H												

ATP	2*10 ⁻⁸ M ATP (concentration finale dans le puits)
B	Blanc (réactif ATP : Tris-EDTA=1:5)
Bx	Blanc (puits utilisés pour le calcul de la diaphonie)

Matériel/Réactifs :

Kit ATP BioThema (ATP-Kit SL 144-041, BioThema AB)

1 plaque Greiner à 96 puits, blanche

Pipette de 200 µl + pointes

Calcul de la sensibilité (Limite de détection) :

$$\text{Detection Limit (fmol / well)} = \frac{2 \cdot 10^{-8} * 3 * \text{Stdev}_B * 0.0002 * \frac{1}{1e^{-15}}}{\text{mean}_{ATP} - \text{mean}_B}$$

$2 \cdot 10^{-8}$	Concentration de standard ATP [M]
Stdev _B	Déviation standard du témoin
mean _{ATP}	Moyenne des puits remplis de standard ATP
mean _B	Moyenne des puits témoins
0,0002	Conversion en mol/puits
$1/1e^{-15}$	Conversion en fmol/puits

Le résultat de la formule détermine la limite de détection en fmol/puits.

6.3.6 Exactitude de l'absorbance

Utiliser la plaque MultiCheck – Veuillez consulter la notice d'utilisation de la plaque MultiCheck pour plus de détails.

6.3.7 Exactitude de la longueur d'onde d'absorbance

L'exactitude de la longueur d'onde définit la déviation des longueurs d'onde de mesure configurées de la longueur d'onde nominale. Ce test n'est valide que pour les configurations M de l'Infinite.

Paramètres de mesure :

Paramètre	Réglage
Mode de lecture	Scan absorbance
Longueur d'onde de mesure de/à	300 – 850 nm
Taille de séquence	1 nm
Nombre de flashes	25
Temps du repos	0
Type de plaque	Plaque MultiCheck

Matériel/Réactifs :

Plaque MultiCheck

Calcul de l'exactitude de la longueur d'onde :

Veuillez consulter la fiche de données dans la notice d'utilisation de votre plaque MultiCheck.

$$\text{Wavelength Accuracy} = \text{Max}_t - \text{Max}_m$$

Max _t	maximum théorique
Max _m	maximum mesuré

6.3.8 *Planéité de base de l'absorbance (configurations M de l'Infinite)*

Réalisez la mesure suivante pour déterminer la planéité de base :

Paramètres de mesure :

Paramètre	Réglage
Mode de lecture	Absorbance
Longueur d'onde de mesure de/à	300 - 700 nm
Nombre de flashes	25
Temps du repos	0
Type de plaque	GRE96ft
Partie de la plaque	A1

Schéma de la plaque :

Aucune plaque n'est nécessaire pour la mesure – le porte-plaque doit être vide pour cette mesure.

Matériel/Réactifs :

Aucun matériel ou réactif n'est nécessaire pour ce test.

Calcul de la planéité de base :

Calculez la déviation standard.

6.3.9 *Planéité de base de l'absorbance (configurations F de l'Infinite)*

Réalisez les mesures suivantes pour déterminer la planéité de base avec le filtre disponible :

Paramètres de mesure :

Paramètre	Réglage
Mode de lecture	Absorbance
Longueur d'onde de mesure	340 nm 405 nm 492 nm 590 nm 620 nm 700 nm
Nombre de flashes	25
Temps du repos	0
Type de plaque	GRE96ft
Partie de la plaque	A1
Cycles cinétiques	20, temps interne minimal

Schéma de la plaque :

Aucune plaque n'est nécessaire pour la mesure – le porte-plaque doit être vide pour cette mesure.

Matériel/Réactifs :

Aucun matériel ou réactif n'est nécessaire pour ce test.

Calcul de la planéité de base :

Calculez la déviation standard sur 20 cycles pour chaque longueur d'onde.

6.3.10 Absorbance dans la cuvette (configurations M de l'Infinite uniquement)

Pour les configurations M de l'Infinite avec l'option **Cuvette**, le test suivant peut être réalisé pour démontrer la spécification de l'exactitude :

Exactitude

Réalisez la mesure suivante pour déterminer l'exactitude de l'absorbance :

Paramètres de mesure :

Paramètre	Réglage
Mode de lecture	Absorbance
Longueur d'onde de mesure	1) 440 nm 2) 635 nm
Nombre de flashes	25
Temps entre déplacement et lecture	0
Type de cuvette	Cuvette calibrée, par exemple Starna RM-N1N35N + une cuvette D3

Matériel :

Matériel de référence Starna® RM-N1N35N + cuvette D3
(pour plus d'informations, veuillez consulter le site www.starna.co.uk)

Calcul de l'exactitude :

Calculez la déviation de la valeur mesurée à partir de la valeur de référence fournie avec la cuvette calibrée.

7. Nettoyage et maintenance

7.1 Introduction



PRECAUTION

AVANT LA PREPARATION DE L'INSTRUMENT POUR L'EXPEDITION, VERIFIER QUE LA MICROPLAQUE EST RETIREE DE L'INSTRUMENT. SI UNE MICROPLAQUE RESTE DANS L'INSTRUMENT, DES SOLUTIONS FLUORESCENTES PEUVENT SE RENSER SUR LES PIECES OPTIQUES ET ENDOMMAGER L'INSTRUMENT.

Les procédures de nettoyage et de maintenance sont importantes afin de prolonger la durée de vie de l'instrument et réduire les besoins de maintenance. Cette section contient les procédures suivantes :

- Éclaboussures de liquide
- Désinfection de l'instrument
- Certificat de désinfection
- Élimination de l'instrument et du matériel



AVERTISSEMENT

TOUTE PIECE DE L'INSTRUMENT QUI ENTRE EN CONTACT AVEC DU MATERIEL POTENTIELLEMENT INFECTIEUX DOIT ETRE TRAITEE COMME UNE ZONE POTENTIELLEMENT INFECTIEUSE.

IL EST RECOMMANDE D'ADHERER AUX REGLES DE PRECAUTIONS DE SECURITE APPLICABLES (Y COMPRIS LE PORT DE GANTS SANS POUDE, DE LUNETTES DE SECURITE ET DE VETEMENTS DE PROTECTION) POUR EVITER TOUTE CONTAMINATION POTENTIELLE AVEC UNE MALADIE INFECTIEUSE LORS DES PROCEDURES DE NETTOYAGE ET LORS DES REGLAGES DE L'INSTRUMENT.

7.2 Éclaboussures de liquide

1. Éteindre l'instrument.
2. Essuyer immédiatement les éclaboussures avec un matériel absorbant.
3. Éliminer convenablement le matériel contaminé.
4. Nettoyer les surfaces de l'instrument avec un détergent doux.
5. Pour les éclaboussures présentant un risque biologique, nettoyer avec du B30 (Orochemie, Max-Planck-Str. 27, 70806 Kornwestheim, Allemagne).
6. Essuyer les zones nettoyées pour les sécher.



AVERTISSEMENT

TOUJOURS ÉTEINDRE L'INSTRUMENT AVANT D'ENLEVER TOUTE ECLABOUSSURE SUR L'INSTRUMENT. TOUTE ECLABOUSSURE DOIT ÊTRE TRAITÉE COMME POTENTIELLEMENT INFECTIEUSE. EN CONSÉQUENCE, TOUJOURS ADHÉRER AUX RÈGLES DE PRÉCAUTIONS DE SÉCURITÉ APPLICABLES (Y COMPRIS LE PORT DE GANTS SANS POUFRE, DE LUNETTES DE SÉCURITÉ ET DE VÊTEMENTS DE PROTECTION) POUR ÉVITER TOUTE CONTAMINATION POTENTIELLE AVEC UNE MALADIE INFECTIEUSE. EN OUTRE, TOUS LES REJETS ISSUS DU NETTOYAGE DOIVENT ÊTRE TRAITÉS COMME POTENTIELLEMENT INFECTIEUX ET LEUR ÉLIMINATION DOIT ÊTRE EFFECTUÉE SELON LES INFORMATIONS DONNÉES DANS LE CHAPITRE 7.4.4 ÉLIMINATION. SI LES ECLABOUSSURES SE PRODUISENT DANS L'INSTRUMENT, UN TECHNICIEN DE MAINTENANCE EST REQUIS.



AVERTISSEMENT

AVANT LA PRÉPARATION DE L'INSTRUMENT POUR L'EXPÉDITION, VÉRIFIER QUE LA MICROPLAQUE EST RETIRÉE DE L'INSTRUMENT. SI UNE MICROPLAQUE RESTE DANS L'INSTRUMENT, DES SOLUTIONS FLUORESCENTES PEUVENT SE RENVERSER SUR LES PIÈCES OPTIQUES ET ENDOMMAGER L'INSTRUMENT.

7.3 Nettoyage et maintenance de l'injecteur

La maintenance requise peut varier selon l'application. Les procédures suivantes sont recommandées pour obtenir des performances optimales et une durée de vie maximale du système d'injecteur.



PRECAUTION

POUR EVITER LE MELANGE DE REACTIFS ET LA CONTAMINATION CROISEE, LAYER SOIGNEUSEMENT L'ENSEMBLE DU SYSTEME D'INJECTEUR ENTRE DES APPLICATIONS NECESSITANT L'UTILISATION DE L'INJECTEUR.

7.3.1 Maintenance quotidienne

Sauf indication contraire du fabricant du kit à utiliser, les opérations suivantes doivent être réalisées au moins une fois par jour :

- Inspecter la/les pompe(s) et la tubulure à la recherche de fuites.
- Rincer soigneusement l'ensemble du système à l'eau distillée ou déionisée après chaque utilisation et si la pompe n'est pas utilisée. Le non-respect de cette consigne peut entraîner la cristallisation des réactifs. Ces cristaux peuvent endommager le joint de la seringue et le clapet de soupape, entraînant des fuites.



PRECAUTION

NE PAS LAISSER LA/LES POMPES(S) FONCTIONNER A SEC PENDANT PLUS DE QUELQUES CYCLES.

7.3.2 Maintenance hebdomadaire/périodique

Le système d'injecteur (tubulure, seringues et aiguilles d'injecteur) doit être nettoyé chaque semaine afin de retirer les sédiments et empêcher la croissance des bactéries :

Suivez les étapes suivantes pour nettoyer le système de pompe/injecteur avec de l'EtOH (éthanol) à 70 % :

1. Selon l'application de l'utilisateur, rincer soigneusement le système avec une solution tampon ou de l'eau distillée avant de le laver avec de l'EtOH à 70 %.
2. Amorcer la pompe avec de l'EtOH à 70 % avec les seringues complètement abaissées pendant 30 minutes.
3. Au bout de ces 30 minutes, pomper tout le liquide de la seringue et de la tubulure dans un réservoir à déchets.
4. Laver le système de pompe/injecteur avec de l'EtOH (éthanol) à 70 %
5. Laver le système de pompe/injecteur à l'eau distillée ou déionisée
6. Amorcer le système de pompe/injecteur avec de l'eau distillée. Laisser le passage de fluide rempli pour le stockage.
7. Nettoyer l'extrémité des aiguilles d'injecteur à l'aide d'un coton-tige imbibé d'éthanol ou d'isopropanol à 70 %.



AVERTISSEMENT

RISQUE D'INCENDIE ET D'EXPLOSION !

L'ETHANOL EST INFLAMMABLE : EN CAS DE MANIPULATION INCORRECTE, DES EXPLOSIONS PEUVENT SE PRODUIRE. LES PRECAUTIONS APPROPRIÉES DE SÉCURITÉ DE LABORATOIRE DOIVENT ÊTRE OBSERVÉES.

7.4 Désinfection de l'instrument

Toutes les parties de l'instrument qui entrent en contact avec les échantillons de patients, des échantillons de contrôle positifs ou des matériels dangereux doivent être traitées comme des zones potentiellement infectieuses.



AVERTISSEMENT

LA PROCEDURE DE DESINFECTION DOIT ETRE EFFECTUEE SELON LES REGLEMENTATIONS NATIONALES, REGIONALES ET LOCALES.



AVERTISSEMENT

TOUTE PIECE DE L'INSTRUMENT QUI ENTRE EN CONTACT AVEC DU MATERIEL POTENTIELLEMENT INFECTIEUX DOIT ETRE TRAITEE COMME UNE ZONE POTENTIELLEMENT INFECTIEUSE.

IL EST RECOMMANDE D'ADHERER AUX REGLES DE PRÉCAUTION DE SECURITE APPLICABLES (Y COMPRIS LE PORT DE GANTS SANS POUDDRE, DE LUNETTES DE SECURITE ET DE VETEMENTS DE PROTECTION) POUR EVITER TOUTE CONTAMINATION POTENTIELLE AVEC UNE MALADIE INFECTIEUSE LORS DE LA PROCEDURE DE DESINFECTION.

Avant que l'instrument soit renvoyé au distributeur pour maintenance ou réparation, il doit être désinfecté et un certificat de désinfection doit être rempli. Si un certificat de désinfection n'est pas fourni, l'instrument peut ne pas être accepté par le centre de service ou peut être retenu par les autorités douanières.

7.4.1 Solutions de désinfection

L'instrument doit être désinfecté avec la solution suivante :

- B30 (Orochemie, Max-Planck-Str. 27, 70806 Kornwestheim, Allemagne)

7.4.2 Procédure de désinfection



AVERTISSEMENT

LA PROCÉDURE DE DÉSINFECTION DOIT ÊTRE EFFECTUÉE DANS UNE PIÈCE BIEN VENTILÉE, PAR UN PERSONNEL FORMÉ PORTANT DES GANTS JETABLES SANS POUDDRE, DES LUNETTES DE PROTECTION ET DES VÊTEMENTS DE PROTECTION.

Si le laboratoire ne possède pas de procédure de désinfection spécifique, suivre la procédure suivante pour désinfecter les surfaces externes de l'instrument :

1. Débrancher l'instrument de l'alimentation principale.
2. Débrancher l'instrument de tous les accessoires utilisés.
3. Essuyer soigneusement les surfaces extérieures de l'instrument avec un tampon de coton trempé dans la solution de désinfection.
4. S'assurer que la même procédure de désinfection est appliquée pour le porte-plaque.
5. Renouveler la procédure de désinfection sur tous les accessoires déplacés pour être renvoyés.
6. Une fois la procédure de désinfection réalisée, s'assurer que le certificat de désinfection est rempli.

7. Remplir un certificat de sécurité et l'apposer de façon visible à l'extérieur du carton.

Voir 7.4.3 Certificat de sécurité pour consulter un exemple de certificat de sécurité à remplir avant de renvoyer l'instrument au centre de service pour maintenance ou réparation.

7.4.3 Certificat de sécurité

Afin d'assurer la sécurité et la santé du personnel, il est demandé à nos clients de remplir deux copies du **Certificat de sécurité** (fourni avec l'instrument) et d'en fixer une copie sur le dessus de l'emballage dans lequel l'instrument est renvoyé (visible de l'extérieur de l'emballage d'expédition !), et de joindre une seconde copie aux documents d'expédition avant de l'envoyer au centre de service pour maintenance ou réparation.

L'instrument doit être décontaminé et désinfecté sur le site de l'autorité opérationnelle avant son expédition (voir 7.4.2 Procédure de désinfection).

La procédure de décontamination et de désinfection doit être effectuée dans un local bien ventilé par un personnel autorisé et formé, portant des gants jetables sans poudre, des lunettes de sécurité et des vêtements de protection.

La procédure de décontamination et de désinfection doit être effectuée conformément aux réglementations nationales, régionales et locales.

Si un Certificat de sécurité n'est pas fourni, l'instrument peut ne pas être accepté par le centre de service.

Votre service client Tecan local peut vous faire parvenir une nouvelle copie du Certificat de sécurité, si nécessaire.

7.4.4 Élimination

Suivre les procédures de laboratoire pour l'élimination de restes biologiques dangereux, conformément aux réglementations nationales et locales en vigueur.

Cette section indique comment éliminer légalement les rejets de matériels en rapport avec l'instrument.



PRECAUTION

RESPECTER TOUS LES REGLEMENTATIONS ENVIRONNEMENTALES INTERNATIONALES, NATIONALES ET LOCALES EN VIGUEUR.



ATTENTION

DIRECTIVE 2002/96/CE SUR LES DECHETS D'EQUIPEMENTS ELECTRIQUES ET ELECTRONIQUES (DEEE)

EFFETS NEGATIFS SUR L'ENVIRONNEMENT ASSOCIES AU TRAITEMENT DES DECHETS D'EQUIPEMENTS ELECTRIQUES ET ELECTRONIQUES

- **NE PAS TRAITER LES DECHETS D'EQUIPEMENTS ELECTRIQUES ET ELECTRONIQUES EN TANT QUE DECHETS MUNICIPAUX NON TRIES.**
- **COLLECTER SEPREMENT LES DECHETS D'EQUIPEMENTS ELECTRIQUES ET ELECTRONIQUES.**

7.4.5 *Élimination du matériel d'emballage*

Conformément à la Directive 94/62/EC sur les emballages et les déchets d'emballage, le fabricant est responsable de l'élimination des matériaux d'emballage.

Retour du matériel d'emballage

Si vous ne souhaitez pas conserver le matériel d'emballage en vue d'utilisations futures, par ex. à des fins de transport et de stockage, retournez l'emballage du produit, des pièces de rechange et des options au fabricant par le biais de l'ingénieur de maintenance.

7.4.6 *Élimination du matériel de fonctionnement*



AVERTISSEMENT
DES DANGERS BIOLOGIQUES PEUVENT DERIVER DU MATERIEL DE DECHET (MICROPLAQUES) DES PROCESSUS EXECUTES AVEC L'INSTRUMENT.

TRAITEZ LES MICROPLAQUES UTILISEES, LES AUTRES CONSOMMABLES ET TOUTES LES SUBSTANCES EMPLOYEES DANS LE RESPECT DES BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE. SE RENSEIGNER SUR LES LIEUX DE COLLECTE ET LES METHODES DE REJET APPROPRIEES DANS VOTRE PAYS, ETAT OU REGION.

7.4.7 *Élimination de l'instrument*

Veillez contacter votre représentant Tecan local avant d'éliminer l'instrument.



PRECAUTION
TOUJOURS DESINFECTER L'INSTRUMENT AVANT SA MISE AU REBUT.

Degré de pollution	2 (IEC/EN 61010-1)
Méthode d'élimination	Déchets contaminés



AVERTISSEMENT
SELON LES APPLICATIONS, DES PIECES DE L'INSTRUMENT PEUVENT AVOIR ETE EN CONTACT AVEC DES MATERIELS A RISQUE BIOLOGIQUE.

- **S'ASSURER DE TRAITER CE MATERIEL CONFORMEMENT AUX STANDARDS ET AUX REGULATIONS DE SECURITE APPLICABLES.**
- **DECONTAMINER TOUTES LES PIECES AVANT L'ELIMINATION (C'EST-A-DIRE LES NETTOYER ET LES DESINFECTER).**

8. Dépannage

N° de l'erreur	Texte d'erreur	Description
1	Command is not valid (Commande non valide)	Erreur non spécifique dans l'instrument – protocole de communication de l'ordinateur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
2	Parameter out of range (Paramètre hors limites)	Erreur non spécifique dans l'instrument – protocole de communication de l'ordinateur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
3	Wrong number of parameters (Nombre erroné de paramètres)	Erreur non spécifique dans l'instrument – protocole de communication de l'ordinateur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
4	Invalid parameter (Paramètre non valide)	Erreur non spécifique dans l'instrument – protocole de communication de l'ordinateur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
5	Invalid parameter at pos (Paramètre non valide à la pos.)	Erreur non spécifique dans l'instrument – protocole de communication de l'ordinateur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
6	[prefix] is missing ([préfixe] est manquant)	Erreur non spécifique dans l'instrument – protocole de communication de l'ordinateur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
7	RS485 Timeout at module [module descr] (RS485 Dépassement de délai au niveau du module [descr. du module])	Erreur de communication interne non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
8	Invalid module number [Nr] (Numéro de module non valide [Nr])	Erreur non spécifique dans l'instrument – protocole de communication de l'ordinateur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
9	Binary Transfer command: [cmd] at module [n] (Commande de transfert binaire : [cmd] au niveau du module [n])	Erreur de communication interne non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
10	Error at command [cmd] at module [n] (Erreur au niveau de la commande [cmd] au niveau du module [n])	Erreur de communication interne non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
11	LID open (Couvercle ouvert)	Le couvercle du transport de plaque ou du porte-filtres a été ouvert pendant une mesure ou l'instrument a été utilisé dans un environnement très lumineux (<< 500 LUX). Veuillez vérifier si le couvercle est complètement fermé ou si l'environnement était trop lumineux.
12	LUMI FIBER broken (FIBRE LUMI cassée)	Panne matérielle du module de luminescence. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
13	Z Motor out of Safety-Range (Moteur Z hors de la plage de sécurité)	Erreur non spécifique dans l'instrument – protocole de communication de l'ordinateur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.

N° de l'erreur	Texte d'erreur	Description
14	Filter is not defined (Le filtre n'est pas défini)	Erreur non spécifique dans l'instrument – protocole de communication de l'ordinateur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
15	X drive init error (Erreur d'initialisation du lecteur X)	Panne matérielle du module de transport de plaque. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
16	Y drive init error (Erreur d'initialisation du lecteur Y)	Panne matérielle du module de transport de plaque. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
17	z drive init error (Erreur d'initialisation du lecteur Z)	Panne matérielle du module du lecteur Z. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
18	Injector A not available (Injecteur A non disponible)	Panne matérielle de l'injecteur A. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
19	Injector B not available (Injecteur B non disponible)	Panne matérielle de l'injecteur B. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
20	Injector Init Error: (Erreur d'initialisation de l'injecteur :)	Panne matérielle du module d'injecteur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
21	Invalid Command: [cmd] (Commande non valide : [cmd])	Erreur de communication interne non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
22	Invalid Operand: [cmd] (Opérande non valide : [cmd])	Erreur de communication interne non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
23	Invalid Command Sequence: [cmd] (Séquence de commande non valide : [cmd])	Erreur de communication interne non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
24	N/A	N/A
25	Injector not init.: [cmd] (Injecteur non init. : [cmd])	Erreur de communication interne non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
26	Plunger Overload: (Surcharge du piston :)	Erreur de communication interne non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
27	Valve Overload: (Surcharge de la soupape :)	Erreur de communication interne non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
28	Plunger Move not allowed: (Déplacement du piston non autorisé :)	Erreur de communication interne non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
29	Command Overflow (Commande Dépassement de capacité)	Erreur de communication interne non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
30	Prepare: [s]: Gain:[g], Counts: [cts] (Préparation : [s] : Gain : [g], Décomptes : [cts])	Panne matérielle non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.

N° de l'erreur	Texte d'erreur	Description
31	[ERR] at module [mod] (cmd:[cmd]) ([ERR] au niveau du module [mod] (cmd :[cmd]))	Panne matérielle non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
32	MTP is in Out-Position (La plaque MT se trouve en position sortie)	Erreur non spécifique dans l'instrument – protocole de communication de l'ordinateur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
33	[val] ... not set at (Ratiolabel [n]) ([val] ... non définie à (Étiquette de rapport [n])	Erreur non spécifique dans l'instrument – protocole de communication de l'ordinateur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
34	Injectors are not enabled (Les injecteurs ne sont pas activés)	Erreur non spécifique dans l'instrument – protocole de communication de l'ordinateur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
35	Invalid Parameter Length (max: [n] char allowed) (Longueur de paramètre non valide (max : [n] car. autorisés))	Erreur non spécifique dans l'instrument – protocole de communication de l'ordinateur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
36	Checksum Error (Erreur de la somme de contrôle)	Erreur de communication sur l'interface USB. Veuillez signaler cette erreur à votre service client local.
37	Init Error at module [mod#] (Erreur d'init. au niveau du module [mod#])	Panne matérielle non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
38	Instrument Initialization Error (Erreur d'initialisation de l'instrument)	Panne matérielle non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
39	Injector A Communication Timeout (Dépassement du délai de communication de l'injecteur A)	Erreur de communication sur l'interface de l'injecteur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client local.
40	Injector B Communication Timeout (Dépassement du délai de communication de l'injecteur B)	Erreur de communication sur l'interface de l'injecteur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client local.
41	Prime Wash Error (Erreur de lavage ou d'amorçage)	Les injecteurs sont encore en cours d'amorçage ou de lavage. Veuillez patienter jusqu'à ce que la procédure d'amorçage ou de lavage soit terminée.
42	Instrument is locked (L'instrument est verrouillé)	L'instrument est verrouillé après un problème matériel sérieux. Pour le déverrouiller, un redémarrage est nécessaire. Veuillez signaler cette erreur à votre service client local.
43	Prepare: [channel]: Wavelength:[lambda] Gain:[g], Counts: [cts] (Préparation : [channel] : Longueur d'onde : [lambda] Gain : [g], Décomptes : [cts])	Panne matérielle non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
44	Steploss Error (Erreur de déplacement)	Défaut de l'actionneur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
45	Sync Scan: Number of EX-Steps does not match EM-Steps (Scan synch. : Le nombre de séquences d'ex. ne correspond pas à celui des séquences d'ém.)	Erreur non spécifique dans l'instrument – protocole de communication de l'ordinateur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.

8. Dépannage

N° de l'erreur	Texte d'erreur	Description
46	Handshake timeout at module (Dépassement de délai de l'agitation manuelle au niveau du module)	Panne matérielle non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
47	Motor Timeout (Dépassement de délai du moteur)	Panne matérielle non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
48	[Value] is not in defined a Range ([Valeur] ne se situe pas dans la plage définie)	Panne matérielle non spécifique. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.
49	Sensor is broken (Le capteur est défectueux)	Défaillance du capteur. Veuillez signaler cette erreur à votre service client Tecan local.

Index

A	
Absorbance	21, 109
Filtre d'absorbance.....	33
Optique d'absorbance	34
Planéité de base	136
Filtre de planéité de base.....	136
Accessoires	115
Affichage des résultats MRW	76
Agitation.....	51
Anisotropie.....	71
Arrêt.....	102
B	
Bordure MRW.....	75
C	
Caractéristiques d'alimentation nécessaires ...	46
Certificat de sécurité.....	144
Condenseur	25, 31
Contrôle de la température.....	50
Contrôle qualité	121
Cuvette	
insertion	42
D	
Déconnecter	102
Démarrage de l'instrument	50
Description générale.....	11
Désinfection	143
Certificat de sécurité	144
Détection d'absorbance.....	35
Détection d'absorbance dans la cuvette	41
Détection de l'intensité de fluorescence	28
E	
Élimination	
Instrument.....	144
Matériel de fonctionnement.....	145
Matériel d'emballage	145
Exactitude	
Absorbance dans la cuvette.....	137
Exactitude de la longueur d'onde	135
Excitation	31
Exemple i-control.....	98
Exemples de cuvette	
i-control	93
F	
Facteur G.....	71
Facteur G non calibré	68
Faisceau de fibre de fluorescence	27
Filtre d'émission.....	32
Filtre passe-bande.....	33
Filtres	
recommandés	115
Fluorescence.....	19
Optique de fluorescence	27
Fluorescence	
Optique de fluorescence du haut	31
Fluorescence résolue en temps	20
Fluorescence résolue en temps (TRF).....	20
Fonctionnalités de l'instrument.....	103
Fonctions logicielles de MRW	76
FRET	19
G	
Gain.....	60
Gamme de blanc	67
I	
i-control et Injecteurs	87
Injecteurs.....	15
Installation	43
Instructions pour le test des spécifications....	123
Intensité totale	71
Intensités	71
L	
Lampe de flash.....	25
Lectures multiples par puits	73
Luminescence	21
Luminescence Flash	22
Luminescence Glow	110, 111
M	
Maintenance.....	139
Matériel d'emballage	
Élimination	145
Retour	145
Mesures cinétiques	51
Microplaques	
types recommandés de.....	116
Miroir de fluorescence du fond.....	27
Mise sous tension de l'instrument	50
Mode de distribution	88
Mode rapport	65
Module de détection de la luminescence	37
Monochromateur	25
Multi-étiquetage.....	51
O	
Optique d'absorbance	35
Optique d'absorbance dans la cuvette	40
Optique de fluorescence du fond	32
Optique de luminescence.....	37
OVER	60
P	
Paramètres de synchronisation.....	65

Paramètres du facteur G	67	Système optique.....	23
photodiode au silicium	26	Système optique d'absorbance	35
plage de tension	46	Système optique de luminescence.....	37
Polarisation	71	Système optique du système de fluorescence du	
Polarisation de fluorescence	67	fond	24
Port de cuvette.....	39	Système optique du système de fluorescence du	
Port de cuvette du système optique	40	haut	23
Précision		T	
Fluorescence du fond	129	Taille du spot d'excitation	27
Fluorescence du haut	126	Taille MRW	74
Fluorescence résolue en temps.....	131	Techniques de mesure	19
Polarisation de fluorescence.....	133	Temps de commutation de filtre	65
Propriétés du PMT	60	Temps de commutation de longueur d'onde ...	65
R		Temps d'intégration	77
Réduction du blanc	67, 71	Temps du repos.....	65
Réglages du flash	64	Terminer une session de mesure.....	102
Roue porte-filtres PMT.....	28	Transfert d'énergie de fluorescence par	
S		résonance (FRET)	19
Sécurité.....	9	Trop plein.....	60
Sensibilité		Type MRW.....	73
Fluorescence du fond	127	Types de cuvette	41
Fluorescence du haut	123	U	
Fluorescence résolue en temps.....	130	Uniformité	
Luminescence Glow	134	Fluorescence du haut	124
Sur le champ.....	112	Uniformité	
Surveillance de flash.....	26	Fluorescence du fond	128
Système d'absorbance	33	V	
Système de lentilles d'intensité		Verrouillages de transport	45
de fluorescence	27		
Système de luminescence.....	37		
Système de source lumineuse	30		

Service client Tecan

Si vous avez des questions ou si vous avez besoin d'une assistance technique pour votre produit Tecan, veuillez contacter votre service client Tecan local. Rendez-vous à l'adresse <http://www.tecan.com/> pour obtenir les coordonnées de contact.

Avant de contacter Tecan, préparez les informations suivantes afin d'obtenir le meilleur support technique possible (voir la plaque signalétique) :

- Nom du modèle de votre produit
- Numéro de série (SN) de votre produit
- Logiciel et version logicielle (le cas échéant)
- Description du problème et personne à contacter
- Date et heure de survenue du problème
- Mesures que vous avez déjà prises pour corriger le problème
- Vos coordonnées (numéro de téléphone, numéro de fax, adresse e-mail, etc.)

Declaration of Conformity

We, TECAN Austria GmbH herewith declare under our sole responsibility that the product identified as:

Product Type: Microplate Absorbance Reader

Model Designation: *INFINITE 200 PRO*

Article Number(s): 30050303

Address: Tecan Austria GmbH
Untersbergstr. 1A
A-5082 Grödig, Austria

is in conformity with the provisions of the following European Directive(s) when installed in accordance with the installation instructions contained in the product documentation:

- **EMC Directive**
- **Machinery Directive**
- **RoHS Directive**

is in conformity with the relevant U.K. legislation for UKCA-marking when installed in accordance with the installation instructions contained in the product documentation:

- **Electromagnetic Compatibility (EMC) Regulations**
- **Supply of Machinery (Safety) Regulations**
- **The Restriction of the Use of Certain Hazardous Substances in Electrical and Electronic Equipment Regulations**

The current applicable versions of the directives and regulations as well as the list of applied standards which were taken in consideration can be found in separate CE & UK declarations of conformity.

These Instructions for Use and the included Declaration of Conformity are valid for all INFINITE 200 PRO instruments with the article numbers listed above. The model designation varies depending on the specific model with different article number.