



Instrucciones de uso de la

Familia de lectores Infinite 200 PRO

Infinite M Nano

Infinite Lumi

Infinite M Nano+

Infinite M Plex

Infinite F Nano+

Infinite F Plex



N.º de pieza del documento: 30218662

2022-07

N.º de revisión del documento: 1.4



30218662 00



ADVERTENCIA

**ANTES DE UTILIZAR ESTE INSTRUMENTO, LEA Y SIGA
DETENIDAMENTE LAS INSTRUCCIONES CONTENIDAS EN ESTE
DOCUMENTO.**

Aviso

Hemos realizado el máximo esfuerzo para evitar errores en el texto y en los diagramas; no obstante, Tecan Austria GmbH no asume ninguna responsabilidad por posibles errores en la presente publicación.

Tecan Austria GmbH tiene el compromiso de mejorar sus productos para aprovechar las nuevas técnicas y componentes disponibles. Por ello, Tecan Austria GmbH se reserva el derecho de modificar las especificaciones en cualquier momento con el fin de incorporar las certificaciones, validaciones y homologaciones pertinentes.

Les agradeceremos sus comentarios sobre esta publicación.



Fabricante

Tecan Austria GmbH
Untersbergstr. 1A
A-5082 Grödig, Austria
Tel. +43 62 46 89 33
Fax +43 62 46 72 770
Correo electrónico: office.austria@tecan.com
www.tecan.com

Información de copyright

El contenido de este documento es propiedad de Tecan Austria GmbH y no puede ser copiado, reproducido ni transferido a terceros sin nuestro consentimiento previo por escrito.

Copyright © Tecan Austria GmbH
Reservados todos los derechos.
Impreso en Austria

Declaración del certificado de la UE

Véase la última página de estas Instrucciones de uso.

Acerca de estas Instrucciones de uso

Instrucciones originales. Este documento describe la familia de lectores de microplacas multifuncionales Infinite 200 PRO. Se pretende que se utilice como referencia e instrucciones de uso. Este documento indica cómo se debe:

- Instalar el instrumento
- Manejar el instrumento
- Limpiar y mantener el instrumento

Notas sobre las capturas de pantalla

Es posible que el número de versión que muestran algunas capturas de pantalla no siempre sea el de la versión más actualizada. Las capturas de pantalla únicamente se modifican si cambia el contenido relacionado con la aplicación.

Marcas registradas

Los siguientes nombres del producto y todas las marcas comerciales registradas o no registradas que se mencionan en este documento se utilizan únicamente a efectos de identificación y son propiedad exclusiva de sus respectivos propietarios:

- Infinite®, i-control™, magellan™, NanoQuant Plate™, Tecan® y el logotipo de Tecan son marcas registradas de Tecan Group Ltd., Männedorf, Suiza
- Windows® y Excel® son marcas registradas de Microsoft Corporation, Redmond (Washington), EE. UU.
- ChromaGlo™ Dual-Luciferase®, Enliten® y NanoBRET™ son marcas registradas de Promega Corporation Madison, WI, EE. UU.
- Starna® es una marca registrada de Starna Scientific Limited, 52-54 Fowler Road, Hainault, Essex IG6 3UT Inglaterra, Reino Unido
- BRET2™, DeepBlueC® y PerkinElmer® son marcas registradas de PerkinElmer, Inc., Waltham, Massachusetts, EE. UU.

Advertencias, llamadas de atención y avisos

En esta publicación se han utilizado los siguientes tipos de avisos para resaltar información relevante o para advertir al usuario sobre una situación potencialmente peligrosa:



Nota
Ofrece información útil.



ATENCIÓN
INDICA LA POSIBILIDAD DE DAÑOS PARA EL INSTRUMENTO O LA PÉRDIDA DE DATOS SI NO SE SIGUEN LAS INSTRUCCIONES.



ADVERTENCIA
INDICA LA POSIBILIDAD DE LESIONES PERSONALES GRAVES, PELIGRO DE MUERTE O DAÑOS PARA EL EQUIPO SI NO SE SIGUEN LAS INSTRUCCIONES.



ADVERTENCIA
ESTE SÍMBOLO INDICA UNA POSIBLE PRESENCIA DE MATERIAL BIOLÓGICAMENTE PELIGROSO. SE DEBEN SEGUIR LAS MEDIDAS APROPIADAS DE SEGURIDAD DEL LABORATORIO.



ADVERTENCIA
ESTE SÍMBOLO INDICA UNA POSIBLE PRESENCIA DE MATERIALES INFLAMABLES Y RIESGO DE INCENDIO. SE DEBEN SEGUIR LAS MEDIDAS APROPIADAS DE SEGURIDAD DEL LABORATORIO.



ATENCIÓN

IMPACTO AMBIENTAL NEGATIVO ASOCIADO CON EL TRATAMIENTO DE RESIDUOS.

- **NO TRATE LOS APARATOS ELÉCTRICOS Y ELECTRÓNICOS COMO RESIDUOS URBANOS SIN CLASIFICAR.**
- **CLASIFIQUE POR SEPARADO LOS DESECHOS PROCEDENTES DE EQUIPOS ELÉCTRICOS Y ELECTRÓNICOS.**



SOLO PARA RESIDENTES EN CALIFORNIA:

ADVERTENCIA

ESTE PRODUCTO PUEDE EXPONERLE A PRODUCTOS QUÍMICOS COMO EL PLOMO, QUE EL ESTADO DE CALIFORNIA CONSIDERA CAUSANTE DE CÁNCER Y ANOMALÍAS CONGÉNITAS U OTROS DAÑOS REPRODUCTIVOS. PARA OBTENER MÁS INFORMACIÓN: WWW.P65WARNINGS.CA.GOV/PRODUCT.

Símbolos

	Fabricante
	Fecha de fabricación
	Marcado de conformidad CE
	El marcado de conformidad UKCA del Reino Unido indica que el producto etiquetado cumple la normativa aplicable en Gran Bretaña.
	Consulte las instrucciones de uso
	Número de catálogo
	Número de serie
	Identificador único del producto El símbolo UDI identifica el soporte de datos indicado en la etiqueta.
	Etiqueta USB
	Símbolo de WEEE
	Símbolo RoHS de China
	MARCADO TÜV SÜD

Tabla de contenido

1.	Seguridad	9
1.1	Seguridad del instrumento	9
2.	Descripción general	11
2.1	Instrumento	11
2.1.1	Uso previsto	11
2.1.2	Multifuncionalidad.....	12
2.1.3	Volúmenes de llenado.....	12
2.1.4	Rendimiento	13
2.1.5	Facilidad de uso	13
2.1.6	Botones de control integrados.....	13
2.1.7	Vista posterior	14
2.2	Software	15
2.3	Inyectores (opcional).....	15
2.3.1	Modos de medición de los inyectores	15
2.3.2	Diagrama del módulo inyector.....	16
2.3.3	Opciones de la bomba inyectora.....	16
2.3.4	Botellas de almacenamiento y portabotellas	16
2.3.5	Portador del inyector	17
2.4	Técnicas de medida	19
2.4.1	Fluorescencia	19
2.4.2	Absorbancia	21
2.4.3	Luminiscencia.....	21
2.5	Sistema óptico.....	23
2.5.1	Sistema de intensidad de la fluorescencia (configuraciones del Infinite M).....	23
2.5.2	Sistema de intensidad de la fluorescencia (configuraciones del Infinite F).....	28
2.5.3	Sistema de polarización de fluorescencia (solamente en el Infinite F Plex)	32
2.5.4	Sistema de absorbancia (configuraciones del Infinite F)	33
2.5.5	Sistema de absorbancia (configuraciones del Infinite M)	34
2.5.6	Sistema de luminiscencia	37
2.5.7	Puerto para cubetas (configuraciones del Infinite M)	39
3.	Instalación.....	43
3.1	Desembalaje e inspección	43
3.1.1	Procedimiento de desembalaje	43
3.2	Retirada de los inmobilizadores de transporte.....	45
3.3	Transporte y almacenamiento	46
3.3.1	Transporte	46
3.3.2	Almacenamiento.....	46
3.4	Requerimientos de energía eléctrica	46
3.5	Encendido del instrumento.....	47
4.	Manejo del instrumento	49
4.1	Introducción.....	49
4.2	Características generales de funcionamiento.....	50
4.2.1	Arranque del instrumento	50
4.3	Opciones generales	50
4.4	Definición de placas de filtros (configuraciones del Infinite F).....	52
4.4.1	Acerca de los filtros	52
4.4.2	Placa de filtros y orientación de los filtros.....	52
4.4.3	Instalación de un filtro personalizado	54
4.4.4	Definición de filtros	56

4.5	Optimización de medidas de fluorescencia	60
4.5.1	Parámetros del instrumento.....	60
4.5.2	Optimización Z (mediciones de FI en la parte superior solo en configuraciones del Infinite M)	61
4.5.3	Modo relación FI.....	65
4.6	Mediciones de la FP	67
4.6.1	Polarización de fluorescencia	67
4.6.2	Rango de medición del blanco.....	67
4.6.3	Ajustes del factor G	67
4.6.4	Medición con un factor G sin calibrar.....	68
4.6.5	Medición y calibración simultáneas del factor G	68
4.6.6	Medición con un factor G calibrado	69
4.6.7	Medición con un factor G manual	70
4.6.8	Cálculo de parámetros de polarización de fluorescencia.....	71
4.7	Optimización de medidas de absorbancia.....	72
4.7.1	Parámetros de medición.....	72
4.7.2	Modo de relación de absorbancia.....	72
4.8	Lecturas múltiples por pocillo.....	73
4.8.1	Tipo de MRW.....	73
4.8.2	Tamaño del MRW.....	74
4.8.3	Borde para MRW.....	75
4.8.4	Representación de resultados en MS Excel	76
4.8.5	Diferentes características del software para MRW	76
4.9	Optimización de las mediciones de luminiscencia.....	77
4.9.1	Tiempo de integración	77
4.9.2	Atenuación del nivel de luz	77
4.10	Mediciones con inyectores.....	78
4.10.1	Cebado y lavado del lector Infinite.....	78
4.10.2	Lavado.....	83
4.10.3	Antes de comenzar a realizar una medición con inyectores.....	87
4.10.4	Modos del inyector (i-control).....	88
4.11	Mediciones de preparaciones de blancos	93
4.12	Mediciones en las cubetas.....	94
4.12.1	Banda para cubetas.....	94
4.12.2	Movimientos de la cubeta	94
4.12.3	Ejemplos de cubetas en i-control.....	94
4.13	Ejemplos en i-control	100
4.14	Finalización de una sesión de medición	104
4.14.1	Desconexión del instrumento.....	104
4.14.2	Apagado del instrumento.....	104
5.	Características del instrumento	105
5.1	Introducción.....	105
5.2	Especificaciones del instrumento.....	106
5.3	Intensidad de fluorescencia y fluorescencia resuelta en el tiempo (TRF).....	108
5.3.1	Definición del límite de detección	108
5.3.2	Fluoresceína (Intensidad de fluorescencia) parte superior	108
5.3.3	Fluoresceína (intensidad de fluorescencia) parte inferior	109
5.3.4	Europio (fluorescencia resuelta en el tiempo).....	109
5.4	Polarización de fluorescencia (FP) - solamente en el Infinite F Plex	110
5.5	Absorbancia	111
5.6	Luminiscencia tipo glow	112
5.6.1	Luminiscencia glow del ATP	112

5.7	Luminiscencia tipo flash	113
5.8	Luminiscencia de dos colores (p.ej. BRET)	113
5.9	Mediciones «sobre la marcha»	114
5.10	Características de las cubetas (solamente para configuraciones del Infinite M).....	114
5.10.1	Especificaciones de las cubetas.....	114
5.11	Especificaciones del inyector	115
5.11.1	Compatibilidad de los reactivos en el inyector.....	115
5.12	Accesorios para la medición	117
5.12.1	Filtros recomendados (solo para configuraciones del Infinite F)	117
5.12.2	Tipos de microplacas recomendados.....	117
5.12.3	Detección de luminiscencia	121
6.	Control de calidad	123
6.1	Pruebas periódicas de control de calidad	123
6.2	Especificaciones - criterios de paso/fallo	124
6.3	Especificaciones - Instrucciones del ensayo	125
6.3.1	Fluorescencia parte superior	125
6.3.2	Fluorescencia parte inferior	129
6.3.3	Fluorescencia resuelta en el tiempo	132
6.3.4	Polarización de fluorescencia (solamente en el Infinite F Plex).....	134
6.3.5	Luminiscencia glow	136
6.3.6	Exactitud de la absorbancia	137
6.3.7	Exactitud de la longitud de onda de la absorbancia	137
6.3.8	Horizontalidad de la línea base de absorbancia (configuraciones del Infinite M)	138
6.3.9	Horizontalidad de la línea base de absorbancia (configuraciones del Infinite F)	138
6.3.10	Cubeta de absorbancia (solamente para configuraciones del Infinite M)	139
7.	Limpieza y mantenimiento	141
7.1	Introducción.....	141
7.2	Derrames de líquidos	142
7.3	Limpieza y mantenimiento de inyectores.....	143
7.3.1	Mantenimiento diario	143
7.3.2	Mantenimiento semanal/periódico.....	143
7.4	Desinfección del instrumento	145
7.4.1	Soluciones desinfectantes.....	145
7.4.2	Procedimiento de desinfección.....	145
7.4.3	Certificado de seguridad.....	146
7.4.4	Eliminación	146
7.4.5	Eliminación del material de embalaje	147
7.4.6	Eliminación de materiales operativos	147
7.4.7	Eliminación del instrumento.....	147
8.	Resolución de problemas	149
	Índice.....	153
	Atención al Cliente Tecan	155

1. Seguridad

1.1 Seguridad del instrumento

1. Cuando use este producto, tome siempre las medidas de seguridad básicas para reducir los riesgos de lesiones, incendio o descarga eléctrica.
2. Lea y comprenda toda la información contenida en las Instrucciones de uso. Si no lee, entiende o sigue las instrucciones contenidas en este documento podría dar como resultado daños en el producto, lesiones en el personal operador o un funcionamiento deficiente del instrumento.
3. Observe todas las notas de ADVERTENCIA y ATENCIÓN de este documento.
4. No abra nunca la carcasa del Infinite 200 PRO mientras esté conectado a una fuente de alimentación.
5. Nunca fuerce las microplacas en el instrumento.
6. El Infinite 200 PRO está concebido como un instrumento de laboratorio de uso general exclusivamente destinado a uso profesional. Observe todas las medidas de seguridad de laboratorio adecuadas, como el uso de ropa de protección y la aplicación de procedimientos de seguridad para laboratorio aprobados.

ATENCIÓN

TECAN AUSTRIA GMBH HA PUESTO SUMO CUIDADO AL CREAR LOS ARCHIVOS DE DEFINICIÓN DE PLACAS QUE SE SUMINISTRAN JUNTO CON EL SOFTWARE DEL INSTRUMENTO.

HEMOS TOMADO TODAS LAS PRECAUCIONES NECESARIAS PARA GARANTIZAR QUE LAS ALTURAS DE PLACAS Y LAS PROFUNDIDADES DE POCILLOS SEAN CORRECTAS DE ACUERDO CON EL TIPO DE PLACA DEFINIDA. ESTE PARÁMETRO SE USA PARA DETERMINAR LA DISTANCIA MÍNIMA ENTRE LA PARTE DE ARRIBA DE LA PLACA Y EL TECHO DE LA CÁMARA DE MEDIDA. ADEMÁS, TECAN AUSTRIA HA AÑADIDO UNA DISTANCIA DE SEGURIDAD MUY PEQUEÑA PARA EVITAR CUALQUIER DAÑO QUE PUDIERA SUFRIR LA CÁMARA DE MEDIDA A CONSECUENCIA DE PEQUEÑOS CAMBIOS EN LA ALTURA DE LAS PLACAS. ESTO NO AFECTA AL FUNCIONAMIENTO DEL INSTRUMENTO.

EL USUARIO DEBERÁ ASEGURARSE DE QUE EL ARCHIVO DE DEFINICIÓN DE PLACAS SELECCIONADO CORRESPONDA A LA PLACA REAL USADA.

EL USUARIO TAMBIÉN DEBERÁ TENER CUIDADO PARA QUE ENCIMA DE LA PLACA NO HAYA POSIBLES CONTAMINACIONES FLUORESCENTES O LUMINISCENTES. TENGA EN CUENTA QUE ALGUNOS SELLADORES PARA PLACAS DEJAN UN RESIDUO PEGAJOSO QUE DEBE ELIMINARSE COMPLETAMENTE ANTES DE EFECTUAR LAS MEDIDAS.



ATENCIÓN

ANTES DE EMPEZAR A HACER MEDIDAS, COMPRUEBE QUE LA POSICIÓN A1 DE LA MICROPLACA ESTÁ INSERTADA CORRECTAMENTE. LA POSICIÓN DE POCILLO A1 TIENE QUE ESTAR EN EL LADO SUPERIOR IZQUIERDO.



**ATENCIÓN**

PARA GARANTIZAR EL ÓPTIMO FUNCIONAMIENTO DE LOS INSTRUMENTOS TECAN, RECOMENDAMOS UN INTERVALO DE SERVICIO DE 6 MESES.

Se da por supuesto que los operadores del instrumento, por su experiencia profesional, están familiarizados con las medidas de seguridad necesarias para manipular productos químicos y sustancias biopeligrosas.

Cumpla las siguientes leyes y directrices:

1. Leyes nacionales de protección industrial
2. Normativas de prevención de accidentes
3. Fichas de datos de seguridad de los fabricantes de reactivos

**ADVERTENCIA**

DEPENDIENDO DE LAS APLICACIONES, ALGUNAS PARTES DEL INSTRUMENTO PODRÍAN ENTRAR EN CONTACTO CON MATERIAL BIPELIGROSO O INFECCIOSO. ASEGÚRESE DE QUE ÚNICAMENTE PERSONAL CUALIFICADO MANEJE EL INSTRUMENTO. SI SE DEBEN REALIZAR TRABAJOS DE MANTENIMIENTO, REUBICAR O ELIMINAR EL INSTRUMENTO, DESINFÉCTELO SIEMPRE DE ACUERDO CON LAS INSTRUCCIONES INDICADAS EN ESTE MANUAL.

2. Descripción general

2.1 Instrumento

El Tecan Infinite 200 PRO es un lector de microplacas multifuncional diseñado para aplicaciones básicas en el mercado de las ciencias biológicas. El Infinite 200 PRO ofrece un gran rendimiento para la inmensa mayoría de aplicaciones e investigaciones actuales con microplacas, y es compatible con sistemas robotizados.

La familia de lectores Infinite 200 se basa en el concepto tecnológico del reconocido lector Infinite, con seis configuraciones disponibles. Esas seis configuraciones, con sus respectivas capacidades y opciones, se resumen a continuación:

Capacidades	Configuraciones del monocromador (M)				Configuraciones del filtro (F)	
	M Nano	M Nano+	Lumi	M Plex	F Nano+	F Plex
Absorbancia - monocromador	x	x		x		
Absorbancia - filtro					x	x
Fluorescencia - monocromador		x		x		
Fluorescencia - filtro					x	x
Fluorescencia - lectura parte superior		x		x	x	x
Fluorescencia - lectura parte inferior		x		x	x	x
Fluorescencia-polarización - filtro						x
Luminiscencia			x	x		x
Opciones						
1 inyector	x	x	x	x	x	x
2 inyectores	x	x	x	x	x	x
Cubeta	x	x		x		
Placa NanoQuant	x	x		x	x	x

2.1.1 Uso previsto

El Infinite 200 PRO ha sido diseñado como instrumento de laboratorio para uso general profesional, y aloja microplacas comunes de 6 a 384 pocillos de conformidad con las normas ANSI/SBS (consulte 5.12.2 Tipos de microplacas recomendados para obtener más detalles).



Nota

La autoridad competente exige la validación del sistema. El Infinite 200 PRO ha sido validado solamente a partir de una serie de ensayos determinados. Es responsabilidad de la autoridad competente asegurarse de que el Infinite 200 PRO haya sido validado para cada ensayo específico en el que se utilice el instrumento.

2.1.2 Multifuncionalidad

El lector Infinite es compatible con las siguientes técnicas de medición, dependiendo de la configuración del lector seleccionada:

- Intensidad de fluorescencia (FI) Parte superior
- Intensidad de fluorescencia (FI) Parte inferior
- Fluorescencia resuelta en el tiempo (TRF)
- Transmisión de energía de resonancia fluorescente (FRET)
- Fluorescencia flash (con inyectores)
- Polarización de fluorescencia (FP)
- Absorbancia
- Absorbancia (con inyectores)
- Absorbancia en cubetas
- Luminiscencia glow
- Luminiscencia flash
- Transmisión de energía de resonancia bioluminiscente (BRET)

Se puede medir cualquier microplaca común que tenga entre 6 y 384 formatos de pocillo de conformidad con las normas ANSI/SBS (ANSI/SBS 1-2004; ANSI/SBS 2-2004, ANSI/SBS 3-2004 y ANSI/SBS 4-2004) con cualquiera de las técnicas de medición anteriormente mencionadas. Mediante un software se puede pasar automáticamente de una técnica de medición a otra o de un formato de placa a otro. No es necesario reconfigurar manualmente la óptica para cambiar entre los modos de lectura válidos para el lector Infinite.

2.1.3 Volúmenes de llenado



ATENCIÓN

SE PUEDEN PROCESAR LAS SIGUIENTES MICROPLACAS SOLAMENTE CON LOS VOLÚMENES DE LLENADO INDICADOS:

- | | | |
|--------------------------|----|---------|
| • PLACAS DE 6 POCILLOS | <= | 2000 µL |
| • PLACAS DE 12 POCILLOS | <= | 1200 µL |
| • PLACAS DE 24 POCILLOS | <= | 1000 µL |
| • PLACAS DE 48 POCILLOS | <= | 400 µL |
| • PLACAS DE 96 POCILLOS | <= | 200 µL |
| • PLACAS DE 384 POCILLOS | <= | 100 µL |

VOLÚMENES DE LLENADO MAYORES PODRÍAN PROVOCAR UN DESBORDAMIENTO DE LOS LÍQUIDOS, LO QUE PODRÍA CAUSAR CONTAMINACIÓN CRUZADA. ADEMÁS, EL DERRAME DEL LÍQUIDO PODRÍA CAUSAR DAÑOS EN EL DISPOSITIVO (P.EJ. LA CONTAMINACIÓN DE LA ÓPTICA Y DE LA ABRAZADERA DE CENTRADO).

SI EL VOLUMEN DE TRABAJO EN EL ARCHIVO DE DEFINICIÓN DE PLACA (PDFX) ES MENOR QUE EL CORRESPONDIENTE VOLUMEN ANTERIORMENTE INDICADO, SE DEBERÁ UTILIZAR EL DE MENOR VALOR PARA EVITAR DERRAMES

(P.EJ. LAS PLACAS CORNING DE 384 POCILLOS TIENEN UN VOLUMEN DE TRABAJO DE SOLAMENTE 80 µL).

PARA FLUIDOS CON UNA VISCOSIDAD MÁS BAJA QUE LAS SOLUCIONES ACUOSAS, TAMBIÉN SE DEBERÁ OPTIMIZAR EL VOLUMEN DE LLENADO DURANTE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO.

2.1.4 Rendimiento

El lector Infinite ha sido diseñado para cumplir con los requisitos de un instrumento de laboratorio de uso general.

El lector Infinite cuenta con una gama de parámetros que le permiten optimizar los resultados de las mediciones según: la configuración específica, el tipo de ensayo (celular u homogéneo), el tipo de microplaca y los volúmenes dispensados por pocillo y las velocidades de suministro.

2.1.5 Facilidad de uso

Los lectores Infinite con distintas configuraciones del monocromador ofrecen una flexibilidad inigualable a la hora de seleccionar la longitud de onda para la medición de la absorbancia y la intensidad de la fluorescencia. Mediante el software se puede ajustar fácilmente cualquier longitud de onda dentro del rango especificado. Además de mediciones a longitudes de onda específicas, también se pueden registrar espectros de absorbancia y fluorescencia. Cuando se recorre un espectro, no existen restricciones debidas a filtros de corte.

Los lectores Infinite con configuraciones de filtro ofrecen una gran flexibilidad para la personalización de las mediciones de la fluorescencia y absorbancia; el usuario puede acceder fácilmente a las placas que contienen filtros de interferencia de fluorescencia y absorbancia.



Nota

Si no se siguen adecuadamente las instrucciones indicadas en este documento, el instrumento resultará dañado o los procedimientos no serán realizados correctamente, y no se garantizará la seguridad del instrumento.

2.1.6 Botones de control integrados

El lector Infinite cuenta con un botón integrado para controlar los movimientos de la placa sin necesidad de conectarse al software. Al pulsar el botón **Introducir/extraer placa**, se reconoce automáticamente la posición actual del portaplacas, y se introduce o extrae la placa del instrumento.

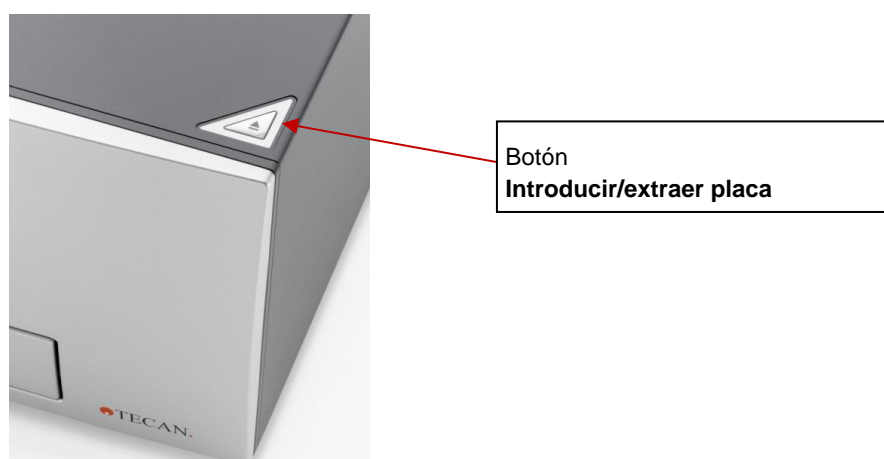


Figura 1: Botón integrado en el lector Infinite. El botón **Introducir/extraer placa** está situado en la esquina frontal derecha de la cubierta superior.

2.1.7 Vista posterior

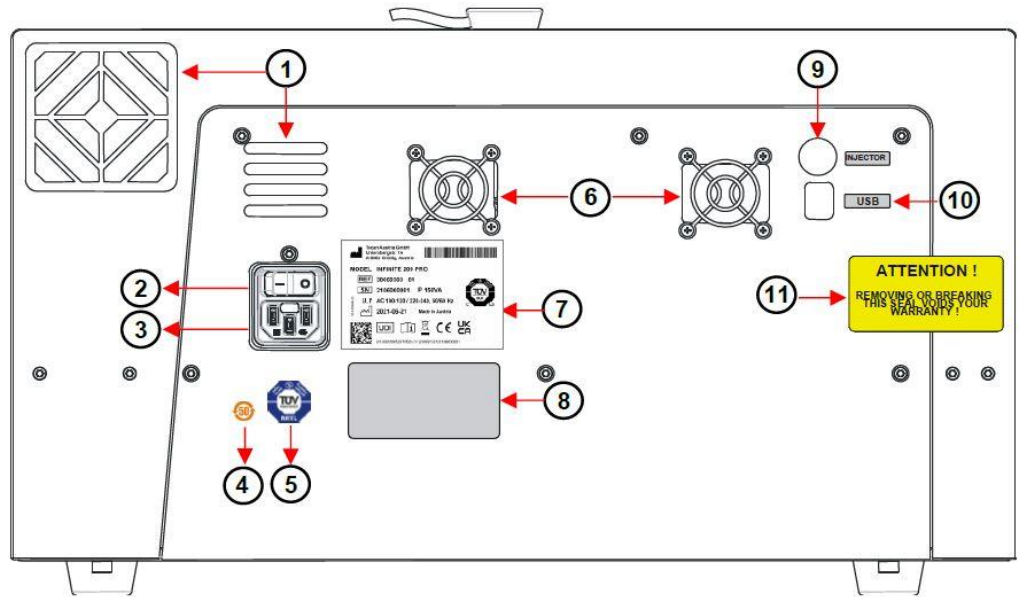


Figura 2: Panel trasero

1	Ventilador del instrumento	
2	Interruptor de corriente principal	
3	Toma de corriente principal	
4	Etiqueta – Símbolo RoHS de China	
5	Etiqueta – Agencia técnica de inspección (TÜV)	
6	Ventilador de la alimentación eléctrica	
7	Placa de identificación	
8	Etiqueta – Opciones/configuración	
9	Conexión del inyector	
10	Conexión USB	
11	Etiqueta de garantía	ATENCIÓN ¡LA RETIRADA O ROTURA DE ESTE SELLO ANULARÁ LA GARANTÍA!



ATENCIÓN

SOLO LOS TÉCNICOS DE MANTENIMIENTO AUTORIZADOS DE TECAN TIENEN PERMISO PARA ABRIR EL INSTRUMENTO. LA RETIRADA O ROTURA DE ESTE SELLO ANULARÁ LA GARANTÍA.

2.2 Software

El lector Infinite se entrega con el software **i-control** para el manejo del instrumento, e incluye un archivo de ayuda y unas instrucciones de uso impresas. El software tiene formato de archivo autoextraíble, y se encuentra en el soporte de almacenamiento de software (para obtener información sobre los requisitos del sistema, consulte las instrucciones de uso en el software **i-control**. Las instrucciones de uso del software **i-control** están en el soporte de almacenamiento de software).

Si prefiere una reducción de datos avanzada, puede utilizar el software **Magellan** para controlar el lector Infinite. Magellan ofrece todas las funcionalidades necesarias de conformidad con el Título 21 CFR Parte 11 de la normativa FDA para firmas y registros electrónicos (para obtener más información, contacte con su representante local de Tecan).

2.3 Inyectores (opcional)

El lector Infinite puede estar equipado opcionalmente con un módulo inyector consistente en una o dos bombas de jeringa (XE-1000, Tecan Systems) colocadas en una caja independiente, que alimentan una o dos agujas del inyector.

Las agujas del inyector están diseñadas para inyectar líquido a cualquier tipo de microplaca con pocillos conforme con la normativa SBS, donde el tamaño de pocillo es igual o mayor que el de las placas de 384 pocillos según dicha normativa SBS.



Figura 3: Caja de inyector con portabotellas

2.3.1 Modos de medición de los inyectores

Los inyectores del lector Infinite funcionan con los siguientes modos de medición:

- Intensidad de fluorescencia en la parte superior e inferior
- Fluorescencia resuelta en el tiempo
- Absorbancia
- Luminiscencia flash
- Luminiscencia glow
- Luminiscencia de dos colores

Puesto que la posición de medición no es la misma que la posición del inyector, se produce un breve retardo (aprox. < 0,5 s) entre la inyección y la lectura.

Para conocer detalles sobre cómo configurar una medición con inyectores, consulte el capítulo 4.10.4 Modos del inyector (i-control).

2.3.2 Diagrama del módulo inyector

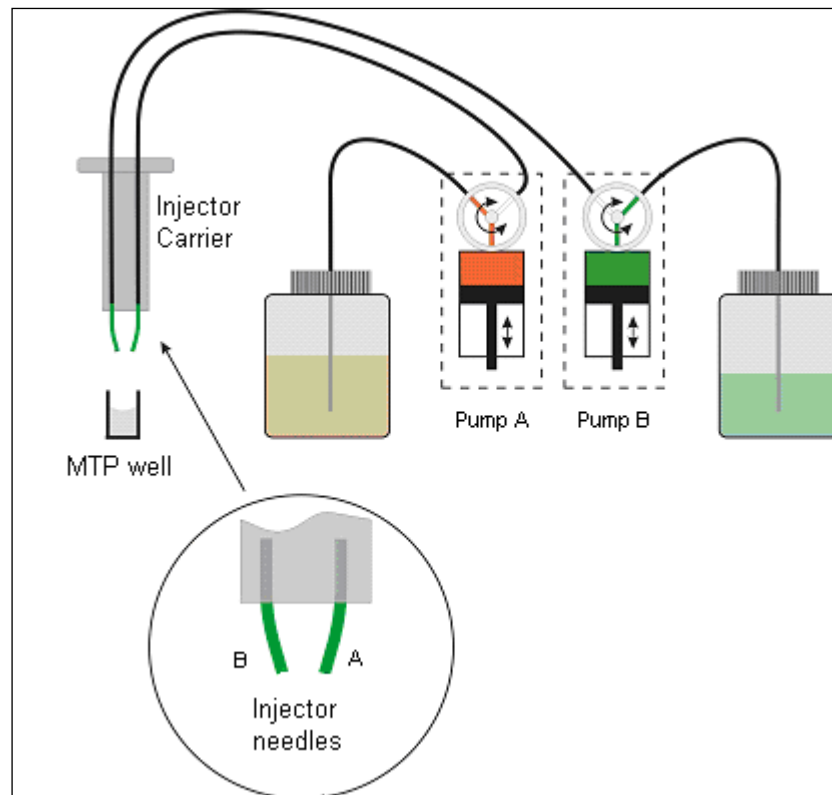


Figura 4: Vista esquemática del módulo inyector

2.3.3 Opciones de la bomba inyectora

El lector Infinite dispone de hasta dos bombas inyectoras (consulte la Figura 4 anteriormente representada):

- La bomba A alimenta la aguja A del inyector
- La bomba B alimenta la aguja B del inyector

El lector Infinite puede estar equipado con una bomba (bomba A) o con dos bombas (bombas A y B):

- **Opción con un inyector (una bomba):** Un lector Infinite equipado con una bomba permite realizar inyecciones en cualquier tipo de microplaca con pocillos conforme con la normativa SBS, donde el tamaño de pocillo es igual o mayor que el de las placas de 384 pocillos según dicha normativa SBS.
- **Opción con dos inyectores (dos bombas):** Algunas aplicaciones, como las reacciones de luminiscencia flash o ensayos con marcadores genéticos duales, requieren la inyección de dos líquidos independientes en el mismo pocillo; por eso, Tecan Austria ofrece la opción con dos inyectores.

2.3.4 Botellas de almacenamiento y portabotellas

La caja del inyector puede alojar hasta dos botellas de 125 ml.

El juego de botellas estándar suministrado con cada opción con inyectores consiste en:

- Una botella de 125 ml y una botella de 15 ml para la **Opción con un inyector** (una bomba) o

- Una botella de 125 ml y dos botellas de 15 ml para la **Opción con dos inyectores** (dos bombas).

La opción con inyectores incluye hasta dos portabotellas diseñados para tubos de diferentes tamaños y volúmenes. Las botellas y tubos que contienen los fluidos que se van a inyectar pueden acoplarse de forma segura al soporte empleando clips de PVC flexibles. Los tubos de la jeringa del inyector se pueden introducir en una aguja de carbono hasta que lleguen al fondo del matraz, para garantizar una aspiración óptima de los volúmenes más pequeños de líquido.



Figura 5: Portabotellas

2.3.5 Portador del inyector

El portador del inyector, que incluye las agujas del inyector, se puede extraer fácilmente del instrumento para el cebado o limpieza del sistema y para optimizar la velocidad de inyección.



Figura 6: Portador del inyector

Cuando se utiliza el inyector durante una medición o simplemente para suministrar a una placa, el portador del inyector debe estar correctamente introducido en el instrumento. Retire el inyector simulado e introduzca el portador en el puerto del inyector. Empuje el portador suavemente hacia el interior del puerto del inyector hasta escuchar un «clic».

El instrumento contiene un sensor del inyector que comprueba que la posición del portador del inyector sea correcta al realizar las acciones **inject** (inyectar) y **dispense** (administrar).

Si el portador del inyector no se ha introducido correctamente, el sensor no lo reconocerá, y no será posible ni inyectar ni suministrar.

Por otro lado, se podrán realizar acciones como el lavado o el cebado aunque el portador del inyector esté introducido; por eso, hay que asegurar se siempre de que el portador del inyector esté en posición de servicio antes del lavado y el cebado.

En el momento de la entrega, todo instrumento estará equipado con la opción de añadir un inyector sobre el terreno.



ATENCIÓN

EL PORTADOR DEL INYECTOR DEBE ESTAR EN LA POSICIÓN DE SERVICIO EN EL MOMENTO DEL LAVADO Y EL CEBADO.

¡EL CEBADO Y EL LAVADO NO SE LLEVARÁN A CABO CON EL PORTADOR DEL INYECTOR COLOCADO EN EL INSTRUMENTO!

Figura 7: Introducción del portador del inyector en el puerto del inyector



CLICK



ATENCIÓN

SI EL PORTADOR DEL INYECTOR NO ESTÁ CORRECTAMENTE INTRODUCIDO EN EL CORRESPONDIENTE PUERTO, EL SENSOR NO DETECTARÁ EL INYECTOR Y, POR TANTO, ESTARÁN HABILITADOS EL LAVADO Y EL CEBADO, LO CUAL PODRÍA DAÑAR EL INSTRUMENTO.

2.4 Técnicas de medida

Las siguientes secciones sirven como introducción a las técnicas de medición del lector Infinite si está completamente equipado. Para no extendernos demasiado, hemos hecho algunas simplificaciones. Para conocer más detalles, consulte las referencias.

2.4.1 Fluorescencia

El lector Infinite permite aplicar la técnica básica de medición de la fluorescencia con alguna variante más compleja:

- Intensidad de la fluorescencia (FI) (o, simplemente, fluorescencia)
- Transmisión de energía de resonancia fluorescente (FRET)
- Fluorescencia resuelta en el tiempo (TRF)
- Polarización de fluorescencia (FP – solamente en el Infinite F Plex)

La FI también se puede usar para medir la transmisión de energía de resonancia fluorescente (FRET). Para algunas aplicaciones con microplacas, la FRET ofrece ventajas respecto de la FI y la TRF, ya que simplifica la preparación de los ensayos. Se aplican preferentemente a estudios de unión de **mezcla y medición**. En comparación con la FP, la FRET requiere que los dos elementos de unión se etiqueten de forma adecuada. Por otro lado, la FRET puede utilizar etiquetas TRF para una mayor sensibilidad, refiriéndonos en ese caso a ellas como HTRF (TRF homogénea).

No se debe confundir la TRF con las mediciones del tiempo de vida de la fluorescencia.

Las moléculas fluorescentes emiten luz con una longitud de onda específica cuando incide sobre ellas una luz con una longitud de onda más corta (cambio de Stokes). En particular, una sola molécula fluorescente puede contribuir con un fotón de fluorescencia (cuanto de luz). Esta es una parte de la energía que ha sido absorbida anteriormente (excitación electrónica), pero que no se ha podido liberar lo suficientemente rápido en forma de energía térmica.

El tiempo promedio que transcurre entre la excitación y la emisión se llama el tiempo de vida de la fluorescencia. Para muchas especies moleculares fluorescentes, el tiempo de vida de la fluorescencia es del orden de los nanosegundos (fluorescencia inmediata). Tras la excitación, existe cierta probabilidad de que se produzca una emisión de fluorescencia (rendimiento cuántico), que dependerá de las especies fluorescentes y de sus condiciones ambientales.

Para ver un tratado detallado sobre técnicas y aplicaciones de la fluorescencia, consulte:

Principios de espectroscopía de fluorescencia, por Joseph R. Lakowicz, Plenum Press.

A) Intensidad de la fluorescencia (FI)

En muchas aplicaciones con microplacas, se mide la intensidad de la emisión de fluorescencia para determinar la abundancia de compuestos con etiquetado fluorescente. En estos ensayos, hay que controlar experimentalmente otros factores que influyen en la emisión de fluorescencia. Temperatura, pH, oxígeno disuelto, tipo de disolvente, etc., son factores que pueden afectar considerablemente al rendimiento cuántico de fluorescencia y, por lo tanto, los resultados de medición.

B) Transmisión de energía de resonancia fluorescente (FRET)

Algunas aplicaciones con microplacas utilizan una sofisticada estrategia de etiquetado dual. El efecto FRET permite medir cuántos compuestos etiquetados de dos formas diferentes están muy próximos. Esto hace que sean equipos aptos para estudios de unión.

Básicamente, la FRET es una medición de la intensidad de la fluorescencia de una de las dos etiquetas fluorescentes (aceptor). No obstante, el aceptor no es susceptible a la longitud de onda de excitación de la fuente de luz utilizada. En cambio, el aceptor puede recibir la energía de excitación de la otra etiqueta fluorescente (donante) si ambas están cercanas en el espacio. Como requisito previo, se debe aplicar la longitud de onda de excitación al donante. En segundo lugar, el espectro de emisión del donante debe solapar el espectro de excitación del aceptor (condición de resonancia). No obstante, la transferencia de energía de excitación del donante al aceptor no produce radiación.

Algunas aplicaciones basadas en la FRET utilizan pares de proteínas fluorescentes adecuadas, como GFP/YFP (proteína verde/amarilla fluorescente – ref. **Uso de GFP en aplicaciones basadas en la FRET** por Brian A. Pollok y Roger Heim – Tendencias en biología celular [Vol.9], febrero de 1999). En el artículo de revisión – **Aplicación de la transmisión de energía de resonancia fluorescente en laboratorios clínicos: Trabajos de rutina e investigación** por J. Szöllösi, et al. en Citometría 34, páginas 159-179 (1998) se ofrece una visión general.

Otras aplicaciones basadas en la FRET aprovechan el uso de etiquetas TRF como donante. Por ejemplo, consulte, **Screening de alto rendimiento** – Marcel Dekker Inc. 1997, Nueva York, Basilea, Hong Kong, sección 19, Método homogéneo de fluorescencia resuelta en el tiempo para el descubrimiento de fármacos, por Alfred J. Kolb, et al.

C) Fluorescencia resuelta en el tiempo (TRF)

La TRF se aplica a una clase de etiquetas fluorescentes (quelatos de lantánidos como el europio, [ref. **Europio y samario en fluoroinmunoensayos**, por T. Ståhlberg, et. al. - American Laboratory, diciembre de 1993 página 15]), algunos con tiempos de vida de fluorescencia en exceso de 100 microsegundos. El lector Infinite utiliza una lámpara de destellos como fuente de luz con una duración de destello mucho más corta que el tiempo de vida de fluorescencia de estas especies. Esto ofrece la posibilidad de medir la emisión de fluorescencia en algún momento en el que la luz parásita y la fluorescencia inmediata se hayan disipado (retardo). Por eso, se puede reducir el fondo de forma significativa, mejorando la sensibilidad.

Las ventajas de la FRET, por tanto, se aplican a ensayos en que se utilizan múltiples etiquetas con diferentes tiempos de vida de fluorescencia.

D) Polarización de fluorescencia (FP)

La polarización de fluorescencia (FP) mide la movilidad rotacional de un compuesto con etiqueta fluorescente. Por eso, la FP es especialmente adecuada para estudios de unión, ya que el movimiento aleatorio de las moléculas pequeñas puede verse ostensiblemente reducido si se une a otra molécula más grande.

Las mediciones de polarización de fluorescencia se basan en la detección de la despolarización de la emisión de fluorescencia tras la excitación de una molécula fluorescente mediante una luz polarizada. Una molécula fluorescente puede visualizarse como una antena. Un tipo de molécula así puede absorber energía si y solo si la polarización de la luz de excitación coincide con la orientación de la antena. Durante el tiempo de vida de la fluorescencia (es decir, el tiempo durante el que una molécula permanece en estado excitado), las moléculas de pequeño tamaño se difunden rotacionalmente con relativa rapidez. De ahí que se

reorienten antes de emitir su fotón. Como resultado de ello, y debido al carácter aleatorio de la difusión, de una luz de excitación polarizada linealmente pasaremos a una luz de emisión menos polarizada. Por eso, si el resultado es un valor elevado de mP, denotará una rotación lenta de la molécula etiquetada, indicando que probablemente se ha producido la unión. Si el resultado es un valor reducido de mP, denotará una rotación rápida de una molécula, indicando que probablemente no se ha producido la unión.

El resultado de la medición de la FP se calcula a partir de dos mediciones sucesivas de la intensidad de la fluorescencia. Difierirán en la orientación mutua de los filtros polarizantes, al estar uno colocado tras el filtro de excitación y el otro delante del filtro de emisión. Al procesar ambos conjuntos de datos, es posible medir hasta qué punto ha cambiado la orientación de la etiqueta fluorescente en el periodo de tiempo entre la excitación y la emisión.

2.4.2 Absorbancia

La absorbancia es una medida de la atenuación de la luz monocromática cuando se transmite a través de una muestra. La absorbancia se define como:

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

Donde I_{MUESTRA} es la intensidad de la luz que se transmite, I_0 la intensidad de la luz que no ha sido atenuada por la muestra. La unidad que se le asigna es la densidad óptica (OD)

De manera que 2,0 OD significa $10^{2.0}$ o una atenuación aumentada 100 veces (1% de transmisión),

1,0 OD significa $10^{1.0}$ o una atenuación aumentada 10 veces (10% de transmisión), y

0,1 OD significa $10^{0.1}$ o una atenuación aumentada 1,26 veces (79,4% de transmisión).

Si la muestra solamente contiene una especie que absorbe en esa estrecha banda para longitudes de onda, la absorbancia corregida de fondo (A) es proporcional a la correspondiente concentración de dicha especie (ley de Lambert-Beer).

2.4.3 Luminiscencia

Quimio o bioluminiscencia tipo glow

El lector Infinite permite medir quimio o bioluminiscencia tipo glow. Tipo glow significa que los ensayos de luminiscencia duran mucho más de un minuto. Están disponibles sustratos luminiscentes que proporcionan una respuesta lumínica lo suficientemente estable durante horas.

Como ejemplo, se puede medir la luminiscencia para determinar la actividad de un compuesto con etiquetado enzimático (peroxidasa, fosfatasa). La emisión de luz se produce a partir de la descomposición de un sustrato luminiscente por parte de la enzima. Si hay un exceso de sustrato, podemos asumir que la señal de luminiscencia es proporcional a la abundancia del compuesto con etiquetado enzimático. Como sucede con los ensayos basados en enzimas, el control de las condiciones ambientales resulta crítico (temperatura, pH).

Para conocer otras cuestiones prácticas relacionadas con los ensayos de luminiscencia, observe el siguiente ejemplo:

Métodos y protocolos de luminiscencia, ed. R.A. LaRossa, Métodos en la biología molecular 102, Humana Press, 1998

Transmisión de energía de resonancia bioluminiscente (BRET)

La BRET es una tecnología de ensayo celular avanzada no destructiva perfectamente adecuada para aplicaciones de proteómica, incluyendo la investigación de receptores y el mapeado de las vías de transducción de señales. Esta tecnología se basa en la transferencia de energía entre proteínas de fusión que contienen *Renilla luciferase* (Rluc) y una mutación de la proteína verde fluorescente (GFP). La señal BRET se genera por oxidación de p.a. DeepBlueC, un derivado de la coelenteracina que maximiza la resolución espectral para una mayor sensibilidad. Esta tecnología de ensayo homogénea ofrece una plataforma sencilla, robusta y versátil con aplicaciones en la investigación básica tanto académica como aplicada.

Luminiscencia flash

En los ensayos de luminiscencia tipo flash, la medición se realiza únicamente durante el suministro del reactivo de activación, o tras un breve retardo (para las mediciones la luminiscencia flash con el lector Infinite, consulte 2.3.1 Modos de medición de los inyectores).

A lo largo de los últimos años, se han mejorado los sustratos luminiscentes con el fin de que proporcionen señales más estables. En los llamados ensayos de luminiscencia tipo glow, la señal luminiscente se propaga a lo largo de una amplia escala de tiempo (p.ej. con una semivida de 30 min.)

2.5 Sistema óptico

2.5.1 Sistema de intensidad de la fluorescencia (configuraciones del Infinite M)

El sistema óptico de los sistemas de fluorescencia en la parte superior e inferior de las configuraciones del Infinite M se representa a continuación.

El sistema consta de:

- Sistema de fuente de luz
- Monocromador de excitación doble
- Óptica parte superior de fluorescencia
- Monocromador de emisión doble y
- Detector de fluorescencia

Las flechas con trazo continuo indican la ruta de la luz de excitación; las flechas con trazos discontinuos indican la ruta de la luz de emisión.

Para simplificar el sistema, no se representa el **Monitor flash** (consulte la sección Monitor flash, página 26). Cada unidad monocromadora, (2) y (4), cuenta con dos rejillas. A continuación, se representan más imágenes con una vista esquemática en la que se incluyen detalles.

Diagrama de la intensidad de la fluorescencia parte superior

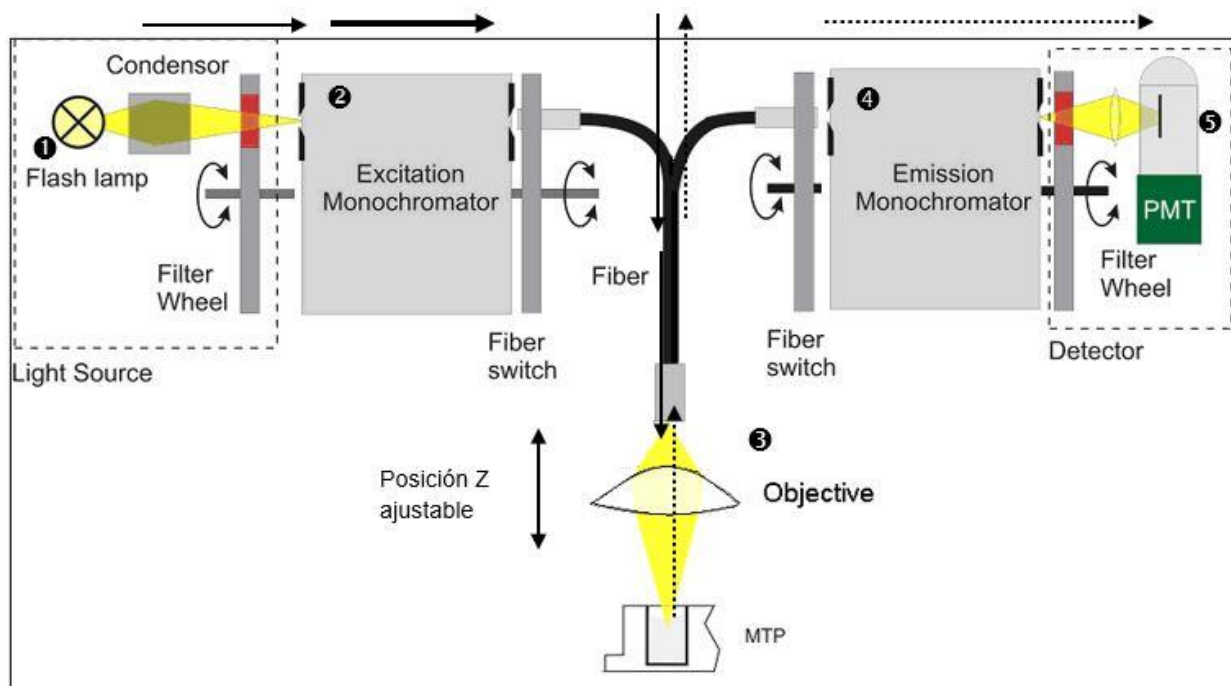


Figura 8: Sistema óptico de fluorescencia, parte superior

Diagrama de la intensidad de la fluorescencia parte inferior

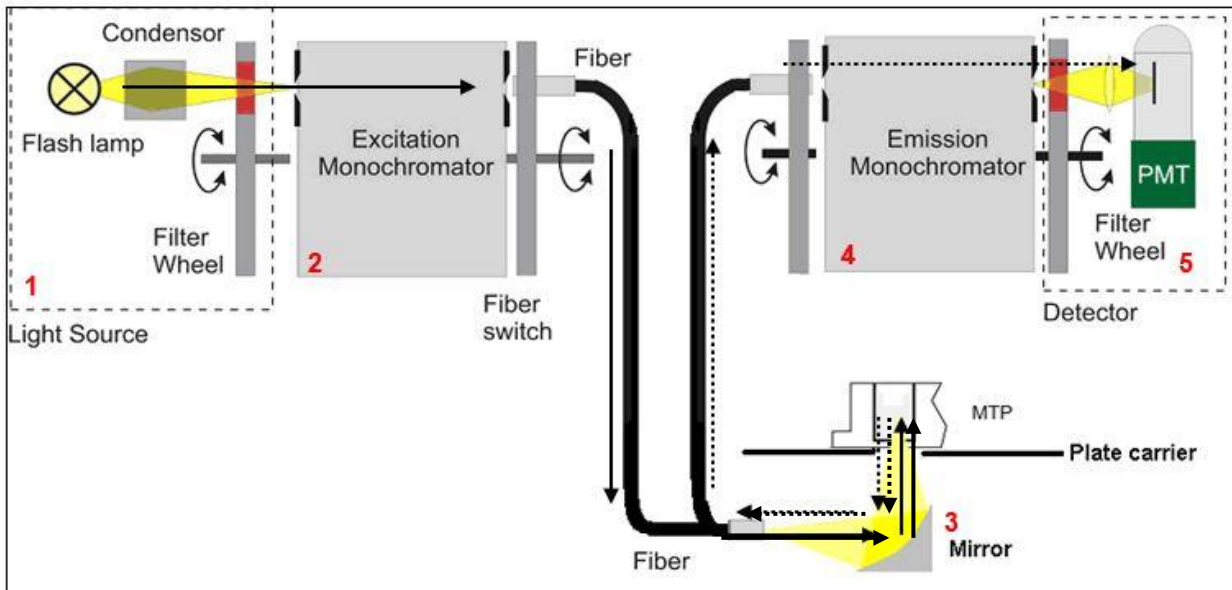


Figura 9: Sistema óptico de fluorescencia, parte inferior

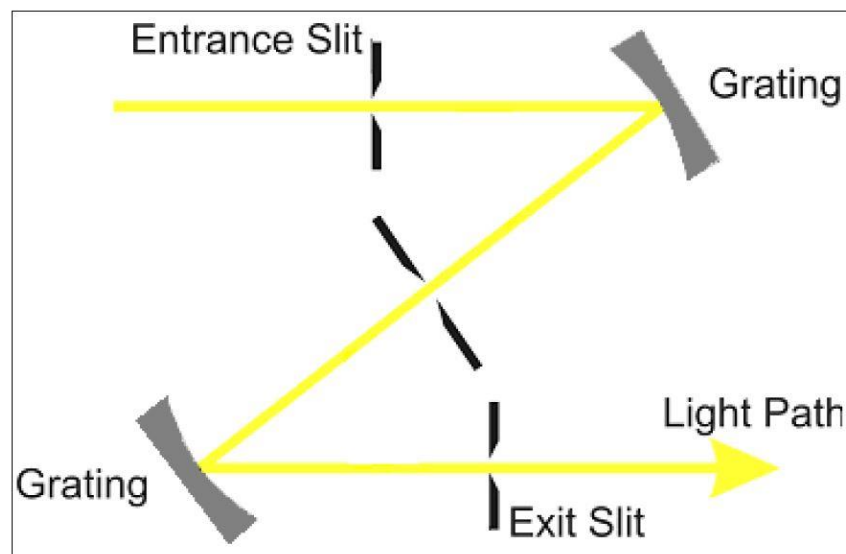


Figura 10: Vista detallada de la unidad monocromadora doble de excitación y emisión

Sistema de fuente de luz para la intensidad de la fluorescencia

Las aplicaciones para fluorescencia normalmente requieren un rango específico de longitudes de onda de excitación. Además, puede ser necesaria luz de excitación pulsada (fluorescencia resuelta en el tiempo [TRF]).

El sistema de fuente de luz de las configuraciones del Infinite M consta de los siguientes componentes:

- Lámpara flash
- Óptica para condensación
- Rueda de filtros
- Monocromador de excitación doble
- Haz de fibras ópticas
- Monitor de lámpara flash

Lámpara flash

La configuración del Infinite M utiliza una lámpara de descarga de arco de xenón de alta energía (lámpara flash). El flash destellea a través de un pequeño hueco entre dos electrodos. La bombilla contiene una atmósfera de xenón de alta presión. El flash se descompone al cabo de pocos microsegundos. La frecuencia de destello es de 40 Hz.

La configuración del Infinite M emplea la lámpara flash para mediciones de fluorescencia y absorbancia, mientras que la iluminación pulsada es obligatoria para TRF. Las ventajas principales de este tipo de lámpara en concreto son:

Alta intensidad, desde luz UV profunda hasta IR cercano

Vida útil muy larga

Muchas aplicaciones, un solo tipo de lámpara

No se necesita tiempo de calentamiento

Condensador

La óptica tipo condensador, a partir de sílice fundido, enfoca el flash hacia la ranura de entrada del monocromador de excitación.

Rueda de filtros

Hay una rueda de filtros colocada entre el condensador y el monocromador de excitación. La rueda de filtros contiene unos filtros ópticos para unas longitudes de onda específicas que son necesarios para bloquear la difracción no deseada que producen las rejillas ópticas. Los filtros se ajustan automáticamente.

Monocromador de excitación doble

Tanto en aplicaciones de fluorescencia como de absorbancia, se usa el monocromador de excitación doble para seleccionar la longitud de onda deseada del espectro de la lámpara flash comprendido entre 230 y 850 nm (versión con espectro mejorado) para la intensidad de la fluorescencia, y entre 230 y 1000 nm para aplicaciones de absorbancia.

En muchos casos, los espectros de emisión de fluorescencia no dependen de la longitud de onda exacta de excitación; por tanto, para poder alcanzar una señal de fluorescencia total máxima, se deberá utilizar un ancho de banda para excitación amplio.

El ancho de banda del sistema monocromador de las configuraciones del Infinite M es < 9 nm para longitudes de onda > 315 nm y < 5 nm para longitudes de onda ≤ 315 nm.

Para una descripción más detallada de cómo funciona un monocromador, lea a continuación.

Descripción de cómo funciona un monocromador

Un monocromador es un instrumento óptico que permite seleccionar cualquier longitud de onda de un espectro óptico definido. Su método de funcionamiento se puede comparar a un filtro óptico sintonizable, que permite ajustar tanto la longitud de onda como el ancho de banda.

Un monocromador consiste en una ranura de entrada, un elemento dispersor y una ranura de salida. El elemento dispersor difracta la luz en el espectro óptico y la proyecta hacia la ranura de salida. Se puede fabricar elemento dispersor utilizando un prisma de vidrio o una rejilla óptica. Los monocromadores modernos, como los que se usan en las configuraciones del Infinite M, están diseñados con rejillas ópticas.

Girando la rejilla óptica alrededor de su eje vertical, se desplaza el espectro a través de la rendija de salida, y solo una pequeña parte de dicho espectro (paso de banda) atraviesa la rendija. Esto significa que, cuando se ilumina la ranura de

entrada del monocromador con luz blanca, solamente pasa a través de la ranura de salida luz con una longitud de onda específica (luz monocromática). La longitud de onda de esta luz se ajusta mediante el ángulo de rotación de la rejilla óptica. El ancho de banda se ajusta mediante la anchura de la ranura de salida. El ancho de banda se define como la Anchura a media altura (FWHM).

Los monocromadores bloquean las longitudes de onda no deseadas, generalmente las que alcanzan valores de 10^3 . Esto significa que, si el monocromador se ajusta a una luz con una longitud de onda de 500 nm y del detector detecta una señal de 10 000 conteos, una luz con longitud de onda diferente generará una señal de solo 10 conteos. Para aplicaciones en el rango de la fluorescencia, este bloqueo no suele ser suficiente, ya que la luz de fluorescencia que se ha de detectar normalmente es mucho más débil que la luz de excitación. Para alcanzar un nivel de bloqueo más alto, se conectan en serie dos monocromadores; es decir, la ranura de salida del primer monocromador actúa simultáneamente como ranura de entrada del segundo. A esto se le conoce como monocromador doble. En este caso, el conteo de bloqueo alcanza un valor de 10^6 , que es el típico que suelen alcanzar los filtros de interferencia.

En las configuraciones del Infinite M, se instala un monocromador doble tanto en el lado de la excitación como el de la detección. De esta forma se facilita la detección sencilla de las longitudes de onda de excitación y de fluorescencia sin limitaciones debidas a filtros de corte.

Haz de fibras ópticas

La luz que atraviesa la ranura de salida del monocromador de excitación es conducida hasta un haz de fibras ópticas, que la lleva bien hasta la óptica de medición parte superior o inferior. El extremo inferior de cada haz de fibras ópticas actúa como fuente de luz de un color específico. En ambos casos, una pequeña porción de la luz es siempre conducida hasta el diodo del monitor de la lámpara flash.

Monitor flash

La energía lumínica de cada uno de los destellos puede fluctuar ligeramente. Para considerar estas variaciones, un fotodiodo de silicio monitoriza la energía de cada uno de los parpadeos. Los resultados de medición de la fluorescencia y la absorbancia se compensan consecuentemente.

Óptica de fluorescencia parte superior/inferior

La luz del flash entra en el sistema óptico, y el condensador la enfoca hacia la ranura de entrada del monocromador de excitación. La longitud de onda de la luz de excitación se selecciona en el monocromador. Tras atravesar el monocromador, la luz de excitación se acopla a un haz de fibras que la conduce hasta el cabezal de medición parte superior o inferior. Seguidamente, el sistema de lentes de la parte superior/inferior enfoca la luz hacia la muestra.

La luz de fluorescencia es captada de nuevo por el sistema de lentes de la parte superior/inferior, se acopla al haz de fibras fluorescentes y es conducida hasta el sistema de detección.

La óptica de medición de la fluorescencia de la parte superior está formada por los siguientes componentes:

- Sistemas de lentes para la intensidad de fluorescencia de la parte superior
- Haz de fibras fluorescentes
- La óptica de la parte inferior consta de los siguientes componentes:
- Espejo de fluorescencia de la parte inferior
- Haz de fibras fluorescentes

Sistemas de lentes para la intensidad de fluorescencia parte superior

El lado de la salida del haz actúa como fuente de luz específica de un color. El sistema de lentes en el extremo de la fibra de excitación parte superior está diseñado para enfocar la luz de excitación hacia la muestra, y también para recoger la luz de fluorescencia y volver a enfocarla hacia el haz de fibras fluorescentes.

Las lentes del objetivo están hechas de silicio fundido. Este material proporciona una transmisión UV alta, y prácticamente no presenta autofluorescencia.

Tamaño del punto de excitación

El tamaño de la sección transversal del haz de fibras determina el diámetro de la cintura del haz (tamaño del punto de excitación) en el pocillo de la microplaca. El diámetro de ese punto para la serie M es de unos 3 mm para la óptica de la parte superior y de 2 mm para la de la parte inferior.

Haz de fibras fluorescentes parte superior e inferior

El haz de fibras conectado al cabezal de medición de la parte superior/inferior contiene una mezcla homogénea de fibras de emisión y excitación. Las fibras de emisión conducen la luz de fluorescencia hasta el cabezal del monocromador de excitación, donde un sistema de lentes enfoca la luz hacia la ranura de entrada del monocromador de emisión.

Espejo de fluorescencia parte inferior

El lado de la salida del haz actúa como fuente de luz específica de un color. El espejo del extremo de la fibra de excitación de la parte inferior está diseñado para enfocar la luz de excitación hacia la muestra y también para recoger la luz de fluorescencia y volver a enfocarla hacia el haz de fibras fluorescentes.

Colocación en el eje Z (parte superior de fluorescencia solo en configuraciones del Infinite M)

La altura del objetivo sobre la muestra se puede ajustar usando la función Posición Z. Puesto que la luz de excitación es reflejada por el fluido de la muestra, el ajuste Z ayuda a maximizar la relación señal-ruido. Para obtener más detalles sobre la colocación en el eje Z, consulte el capítulo 4.5.2 Optimización Z (mediciones de FI en la parte superior solo en configuraciones del Infinite M).

Detección de la intensidad de fluorescencia

El sistema de detección de la fluorescencia se usa con ambos modos de medición: fluorescencia desde arriba (parte superior) y desde debajo de los pocillos de la microplaca (parte inferior).

La luz de fluorescencia se enfoca hacia la ranura de entrada del monocromador de emisión. Una vez atravesado el monocromador, se enfoca la luz hacia el detector (PMT). Hay una rueda de filtros colocada entre el monocromador y el PMT.

El sistema de detección de la fluorescencia consta de los siguientes componentes:

- Monocromador de emisión doble
- Rueda de filtros del PMT
- Detector PMT

Monocromador de emisión doble

El monocromador de emisión doble, similar al monocromador de excitación doble, se utiliza para seleccionar cualquier longitud de onda de la señal de fluorescencia.

Actúa como un filtro ajustable para la discriminación de la dispersión de la luz de excitación y la fluorescencia no específica. El rango de longitudes de onda que se puede seleccionar en un instrumento con espectro ampliado va desde 280 hasta 850 nm. El ancho de banda es de 20 nm.

Rueda de filtros del PMT

La rueda de filtros contiene unos filtros ópticos para unas longitudes de onda específicas que son necesarios para bloquear la difracción no deseada que producen las rejillas ópticas. Los filtros se ajustan automáticamente.

Detector PMT

Se utiliza un tubo fotomultiplicador (PMT) para detectar los bajos niveles de luz asociados a la fluorescencia. El PMT de la versión con espectro ampliado de las configuraciones del Infinite M es sensible hasta el infrarrojo cercano (NIR), aunque sigue teniendo una corriente oscura baja. Los circuitos eléctricos utilizan la conversión de analógico a digital de la corriente de salida del PMT. El ajuste de la ganancia del PMT permite la medición de un amplio rango de concentraciones con órdenes de concentración más bajos o más altos. Para conocer más detalles, consulte la sección 4.5.1 Parámetros del instrumento.

2.5.2 Sistema de intensidad de la fluorescencia (configuraciones del Infinite F)

El sistema de intensidad de la fluorescencia de las configuraciones del Infinite F está constituido por las siguientes partes:

- Fuente de luz
- Óptica de fluorescencia
- Sistema de detección de la fluorescencia

El sistema de fluorescencia de la parte superior se muestra en la Figura 11, y el sistema parte inferior en la Figura 12. Las flechas con trazo continuo indican la ruta de la luz de excitación; las flechas con trazos discontinuos indican la ruta de la luz de emisión.

Diagrama de la intensidad de la fluorescencia parte superior

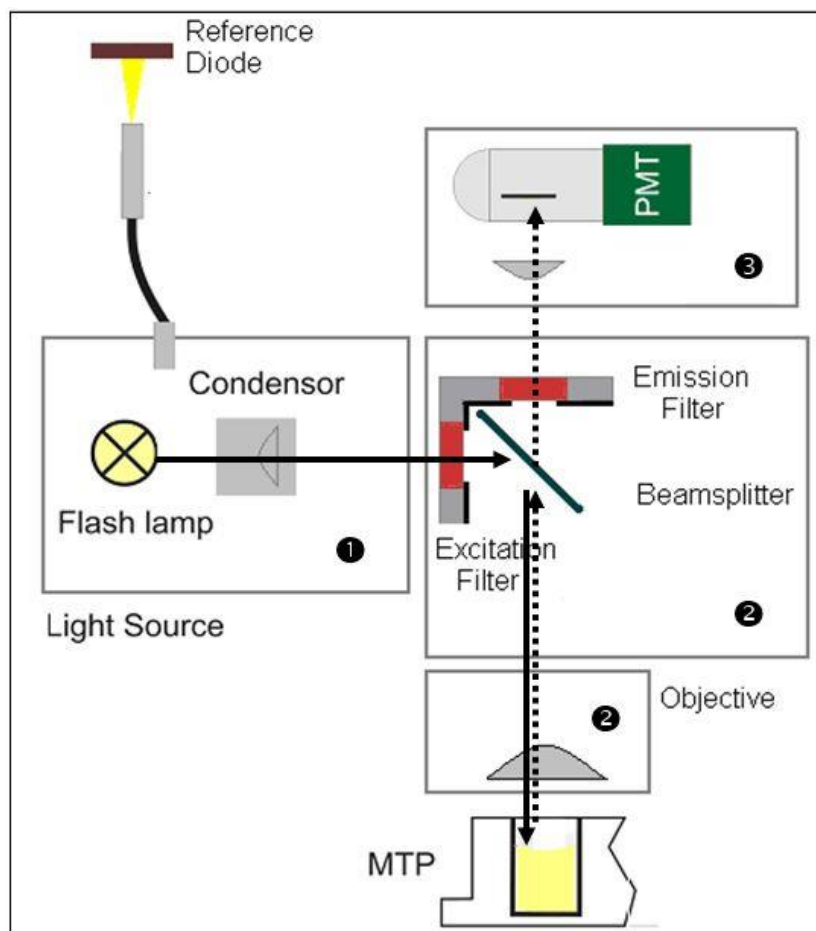


Figura 11: Sistema de intensidad de la fluorescencia parte superior de las configuraciones del Infinite F

Diagrama de la intensidad de la fluorescencia parte inferior

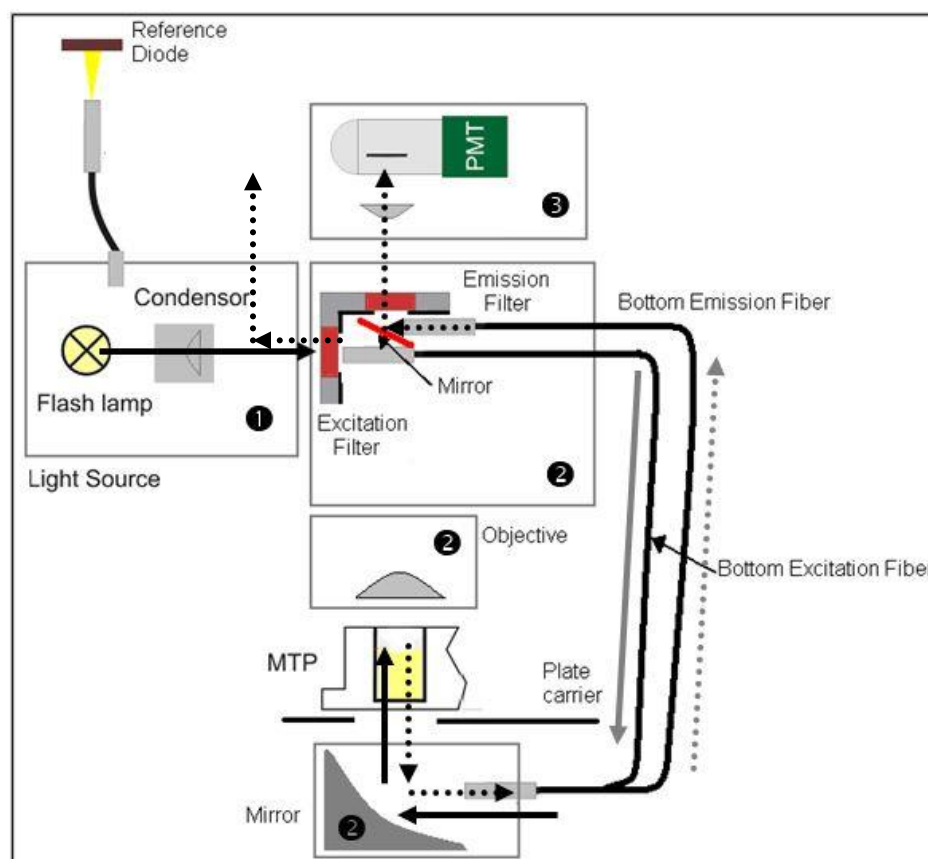


Figura 12: Sistema de intensidad de la fluorescencia parte inferior de las configuraciones del Infinite F

Sistema de fuente de luz

La luz del flash entra en el sistema óptico al ser enfocada a través de una ranura que contiene al filtro. Esta apertura actúa como fuente de luz específica de un color.

El sistema de fuente de luz de las configuraciones del Infinite F consta de los siguientes componentes:

- Lámpara flash
- Óptica para condensación
- Filtros de excitación
- Monitor de lámpara flash

Lámpara flash

La configuración del Infinite F utiliza una lámpara de descarga de arco de xenón de alta energía (lámpara flash). El flash destellea a través de un pequeño hueco entre dos electrodos. La bombilla contiene una atmósfera de xenón de alta presión. El flash se descompone al cabo de varios microsegundos. La frecuencia de destello es de 40 Hz.

La configuración del Infinite M emplea la lámpara flash para mediciones de fluorescencia y absorbancia, mientras que la iluminación pulsada es obligatoria para TRF. Las ventajas principales de este tipo de lámpara en concreto son:

- Alta intensidad, desde luz UV profunda hasta IR cercano
- Vida útil muy larga
- Muchas aplicaciones, un solo tipo de lámpara
- No se necesita tiempo de calentamiento

Condensador

La óptica tipo condensador enfoca la luz a través de la ranura de entrada hacia el sistema óptico de fluorescencia.

Filtro de excitación

Los filtros paso banda para unas longitudes de onda específicas sirven para seleccionar el rango de longitudes de onda de interés del espectro completo de la luz de excitación procedente de la lámpara flash. Los filtros están instalados en placas extraíbles, y el propio usuario los puede sustituir.

Monitor flash

La energía lumínica de cada uno de los destellos puede fluctuar ligeramente. Para considerar estas variaciones, un fotodiodo de silicio monitoriza la energía de cada uno de los parpadeos. Los resultados de medición de la fluorescencia se compensan consecuentemente.

Óptica de fluorescencia parte superior

La luz del flash entra en el sistema óptico al ser enfocada a través de una ranura, y llega hasta el filtro de excitación. Dependiendo de la longitud de onda medida, o bien un espejo semitransparente (50 %) o bien un espejo dicróico especial refleja la luz hacia la microplaca. El sistema de lentes del objetivo enfoca la luz hacia la muestra.

La emisión de fluorescencia se mide desde encima del pocillo. La luz de fluorescencia es captada por el objetivo, dirigida a través del correspondiente espejo y enfocada a través de la ranura de salida para su detección.

Sistema de lentes del objetivo

El objetivo está diseñado para captar la luz fluorescente emitida desde un pocillo y enfocarla a través de la ranura de salida hacia el sistema de detección.

Las lentes del objetivo están hechas de silicio fundido. Este material proporciona una transmisión UV alta, y prácticamente no presenta autofluorescencia.

Selección del espejo - Fluorescencia parte superior (solo para configuraciones del Infinite F)

La configuración del Infinite F está equipada con un portaespejos, que aloja un espejo del 50% y un espejo dicróico 510.

La ventaja del espejo del 50% es que funciona con cualquier par de longitudes de onda de excitación y de emisión. En cambio, el 50% de la luz de excitación que es dirigida a la muestra y, por consiguiente, el 50% de la luz que sale de la muestra, se pierde.

Los espejos dicróicos dependen de la longitud de onda, y están diseñados para reflejar un rango determinado de longitudes de onda prácticamente entero. Estos espejos presentan una gran reflexión de la luz de excitación, y una gran transmisión de la luz de emisión. Además, suelen tener una relación señal-ruido comparados con los espejos del 50%.

Disponible para formatos de placa de hasta 384 pocillos.



Nota

Los espejos dicróicos tienen que concordar con la longitud de onda de emisión y excitación de fluorescencia que haya seleccionado.

Tipo de espejo	Reflexión (excitación)	Transmisión (emisión)
Espejo 50%	230 – 900 nm	230 – 900 nm
510 dicroico (p.ej. fluoresceína)	320 – 500 nm	520 – 780 nm

Según las longitudes de onda definidas en la casilla de la medición, el espejo dicroico se selecciona automáticamente si las longitudes de onda de excitación y emisión coinciden con el rango especificado para el espejo. Si la longitud de onda de excitación o de emisión no coincide con el rango del espejo dicroico, se selecciona automáticamente el espejo del 50% para la medición.

Óptica de fluorescencia parte inferior

La luz del flash entra en el sistema óptico al ser enfocada a través de una ranura, y llega hasta el filtro de excitación. La fibra de excitación de la parte inferior guía la luz hacia la sonda de la óptica de la parte inferior, que consiste en un espejo elíptico que enfoca la luz a través de la parte inferior de la microplaca hacia el pocillo. La luz emitida es enfocada hacia la fibra de excitación de la parte inferior, que la conduce a través de un espejo por el filtro de emisión hasta el sistema de detección de la fluorescencia.

Detección de la fluorescencia

Filtro de emisión

Los filtros paso banda para unas longitudes de onda específicas sirven para discriminar señales de fluorescencia no específicas de la luz de emisión de interés específica de la muestra. Los filtros están instalados en placas extraíbles, y el propio usuario los puede sustituir.

Los filtros de fluorescencia se pueden utilizar indistintamente como filtros de excitación o de emisión, dependiendo de los requisitos de medición.

El diámetro del punto del haz luminoso para las configuraciones del Infinite F es de alrededor de 2 mm.

Detector PMT

Se utiliza un tubo fotomultiplicador (PMT) para detectar los niveles de luz extremadamente bajos asociados a la fluorescencia. Para conocer más detalles, consulte la sección Detección de la intensidad de fluorescencia, en la página 27.

2.5.3 Sistema de polarización de fluorescencia (solamente en el Infinite F Plex)

Para obtener detalles técnicos, consulte el capítulo 2.5.2 Sistema de intensidad de la fluorescencia (configuraciones del Infinite F).

Infinite F Plex, la configuración del Infinite F para las mediciones de polarización de fluorescencia (FP), se entrega con una placa de filtros FP estándar. La placa de filtros está equipada con filtros y polarizadores de excitación y emisión, a 485 y 535 nm respectivamente, y puede aplicarse para la medición, por ejemplo, en aplicaciones de FP con fluoresceína.

Para conocer detalles sobre cómo instalar polarizadores y filtros FP, consulte el capítulo 4.4 Definición de placas de filtros (configuraciones del Infinite F).

2.5.4 Sistema de absorbancia (configuraciones del Infinite F)

Para las mediciones de absorbancia, se utiliza una ruta óptica similar que para la excitación de fluorescencia. El módulo de medición de la absorbancia está colocado por debajo del portaplacas. Mide la luz que se transmite a través de la muestra. Antes de medir la microplaca, se realiza una medición de referencia con el portaplacas desplazado del haz de luz (consulte también 2.4.2 Absorbancia).

El sistema de absorbancia se muestra en Figura 13 y consta de los siguientes componentes:

- Fuente de luz
- Óptica de absorbancia
- Unidad de detección de la absorbancia

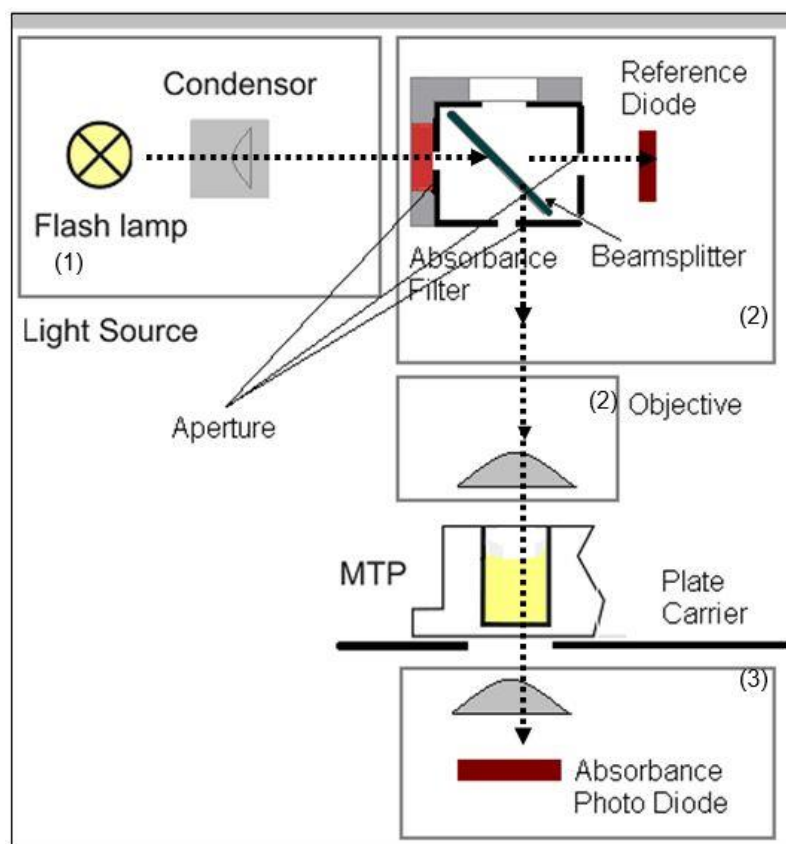


Figura 13: Sistema de absorbancia de las configuraciones del Infinite F

Sistema de fuente de luz

El sistema de fuente de luz de absorbancia es similar al del sistema de fluorescencia de la parte superior.

Filtro paso banda

En las aplicaciones de absorbancia, los filtros ópticos de tipo paso de banda son necesarios para seleccionar las longitudes de onda más útiles del espectro de la lámpara flash. Los filtros se montan en placas extraíbles.

Filtro de absorbancia

Las mediciones de absorbancia requieren unos filtros paso banda relativamente estrechos (2 – 10 nm) con grandes inclinaciones.

Óptica de absorbancia

El portaespejos tiene una determinada posición de absorbancia. Un par de pequeñas ranuras forman un estrecho haz de luz más colimado en comparación con la excitación de fluorescencia.

La luz enfocada a través del líquido dispensado es ligeramente refractada en las interfaces entre el aire, el líquido y la parte inferior de la placa. Para lograr una medición fiable en presencia del menisco, una lente de enfoque capta los rayos de luz que hayan sido refractados a una distancia demasiado lejana del eje óptico.

El tamaño del punto de incidencia del haz de luz de absorbancia es de 0,5 mm (diámetro).

Detección de la absorbancia

Para la medición del haz de luz se utiliza un fotodiodo de silicio. Es sensible a una amplia gama de longitudes de onda. El fotodiodo es muy adecuado para los niveles luminosos de mediciones de absorbancia por debajo de 4 OD.



Nota

Para mediciones de absorbancia de ácidos nucleicos en volúmenes pequeños (2 µl), use una placa NanoQuant Plate™ de Tecan.

Con este dispositivo es posible medir 16 muestras distintas en una sola medida.

Para obtener más información, contacte con su distribuidor local de Tecan o visite www.tecan.com.

2.5.5 Sistema de absorbancia (configuraciones del Infinite M)

Para las mediciones de absorbancia, se utiliza una ruta óptica similar a la empleada para la excitación de fluorescencia.

El sistema de absorbancia consta de:

- Fuente de luz
- Monocromador de excitación
- Óptica de absorbancia MTP
- Módulo de medición de la absorbancia MTP

La óptica tipo condensador enfoca la luz a través de los filtros de excitación y, seguidamente, de la ranura de entrada al monocromador de excitación. Un haz de fibras dirige a continuación la luz desde el monocromador hasta la óptica de la placa MT de absorbancia, que enfoca la luz en los pocillos. Los módulos para la medición de la placa MT de absorbancia están colocados por debajo del portaplaquetas. Estos módulos miden la luz que se transmite a través de la muestra. Antes de medir la microplaca (MTP), se realiza una medición de referencia con el portaplaquetas desplazado respecto del haz de luz.

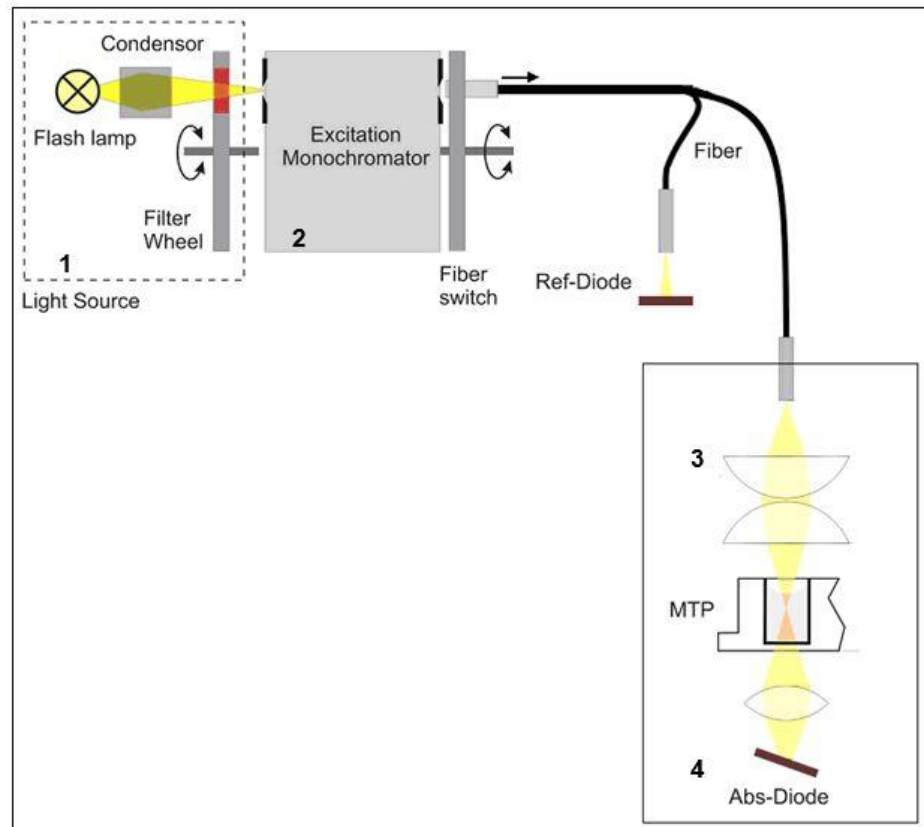


Figura 14: Absorbancia del sistema óptico de las configuraciones del Infinite M

Para conocer detalles acerca de la fuente de luz (1) y el monocromador de excitación (2), consulte Sistema de fuente de luz para la intensidad de la fluorescencia, en la página 24.

Óptica de absorbancia de la placa MT

Un haz de fibras guía la luz desde el sistema monocromador de excitación hacia la óptica de la placa MT de absorbancia.

La óptica de absorbancia consiste en un par de lentes enfocando al haz de luz hacia el pocillo de la microplaca.

El tamaño del punto de incidencia del haz de luz de absorbancia es de 0,7 mm de diámetro.

Detección de la absorbancia en la placa MT

Para la medida de la luz transmitida se utiliza un fotodiodo de silicio. Es sensible a una amplia gama de longitudes de onda. El fotodiodo es muy adecuado para los niveles luminosos de mediciones de absorbancia por debajo de 4 OD.



Nota

Para mediciones de absorbancia de ácidos nucleicos en volúmenes pequeños (2 µl), use una placa NanoQuant Plate™ de Tecan.

Con este dispositivo es posible medir 16 muestras distintas con una sola medición.

Para obtener más información, contacte con su distribuidor local de Tecan o visite www.tecan.com

Corrección del paso de luz

La **corrección del paso de luz**, para lectores Infinite con configuraciones de monocromador, se puede utilizar para corregir valores de absorbancia de muestras en microplacas con un paso de luz de 1 cm, con el fin de comparar los resultados de medición con las lecturas realizadas con cubetas o para realizar análisis cuantitativos de muestras basados en su coeficiente de extinción.

Según la ley de Beer-Lambert, la cantidad de luz absorbida es proporcional a la concentración de la muestra y al paso de luz que atraviesa dicha muestra. Al contrario de lo que sucede con una cubeta estándar de 1 cm, el paso de luz en una microplaca es desconocido, y dependerá del volumen de llenado de los pocillos. Para soluciones acuosas, el paso de luz se puede calcular a partir de los valores de absorbancia del agua registrados en el rango de longitudes de onda del infrarrojo cercano (de 900 nm a 1000 nm) utilizando una cubeta y la respectiva microplaca.



Nota

La absorción de agua depende de la temperatura. Asegúrese de realizar todas las mediciones exactamente a la misma temperatura.



Nota

La absorción de luz por parte de cualquiera de los componentes del ensayo entre 900 y 1000 nm interferirá en la corrección del paso de luz.



Nota

Tenga en cuenta que los componentes orgánicos tampón (concentración de sal), los disolventes orgánicos, el menisco y las características de la placa pueden afectar a la medición de la corrección del paso de luz.



ATENCIÓN

LAS MUESTRAS TURBIAS PUEDEN PROVOCAR UNA DISMINUCIÓN DEL PASO DE LUZ ESTIMADO DEBIDO A LA DISPERSIÓN DE LA LUZ. LA CORRECCIÓN DEL PASO DE LUZ CON CUBETAS NO COMPENSA ESTE EFECTO.

El cálculo del **paso de luz** de la muestra se realiza como sigue:

$$\text{Paso de luz}_{\text{Muestra}} = (A_{\text{TW}} - A_{\text{RW}}) / (A_{\text{Agua}}) * 1 \text{ cm}$$

A_{TW} = Absorción de una muestra acuosa a la longitud de onda de prueba

A_{RW} = Absorción de una muestra acuosa a la longitud de onda de referencia

A_{Agua} = A_{TW} menos A_{RW} del agua en una cubeta de 1 cm (= factor de corrección)

El paso de luz calculado se usa finalmente para corregir la absorbancia de la muestra (A_{Muestra}) a la longitud de onda específica del colorante a 1 cm ($A_{\text{MuestraCorregida}}$):

$$A_{\text{MuestraCorregida}} = A_{\text{Muestra}} / \text{Paso de luz}_{\text{Muestra}}$$

2.5.6 Sistema de luminiscencia

El sistema de luminiscencia del lector Infinite consta de las siguientes partes:

- Óptica de luminiscencia
- Unidad de detección (PMT de conteo de fotón único)

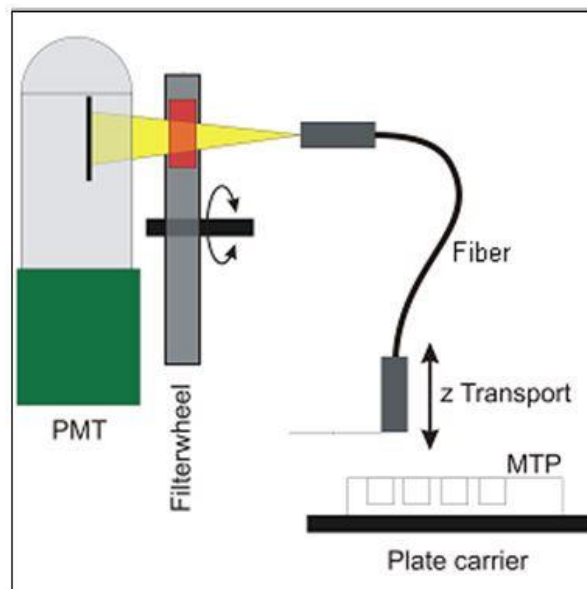


Figura 15: Luminiscencia del sistema óptico

El haz de fibras de luminiscencia guía la luz desde la muestra hasta la unidad de detección (PMT) pasando por una rueda de filtros. El PMT (tubo fotomultiplicador) para el conteo de fotones está diseñado para aplicaciones de quimio y bioluminiscencia, y ofrecen un rango muy dinámico. Su ruido, excepcionalmente bajo, y su alta sensibilidad permiten la detección de niveles muy bajos.

La posición Z del haz de fibras de luminiscencia fijado sobre el soporte de la óptica se ajusta automáticamente a través del software, y depende del archivo de definición de la placa seleccionada. Cuando la luz es refractada en la superficie líquida de la muestra, el ajuste Z permite maximizar la relación señal-ruido y minimizar la diafonía.

Óptica de luminiscencia

En el modo de medición de la luminiscencia, el lector Infinite utiliza una posición fija de la microplaca y un cabezal de medición de la luminiscencia móvil (consulte la Figura 15: Luminiscencia del sistema óptico). El espesor de la placa se define seleccionando el correspondiente tipo de placa en el software (consulte las instrucciones de uso del i-control).

Fibra

Una fibra óptica guía la luz desde la muestra hasta la unidad de detección. La fibra está diseñada para medir placas con 6 hasta 384 pocillos.

Rueda de filtros

Una rueda de filtros con 6 posiciones de filtrado colocada delante de la ventana del PMT cambia en función del canal de luminiscencia necesario. La sensibilidad del sistema de detección hace que sea necesario atenuar los altos niveles de luminiscencia; por tanto, la rueda de filtros también puede cambiar a un filtro de densidad neutra a través de la salida de la fibra seleccionada.

Posición de la rueda de filtros	Filtro
Posición 1	Lumi Green*
Posición 2	Lumi Magenta*
Posición 3	OD2 neutral density filter
Posición 4	Sin atenuación
Posición 5	Red NB **
Posición 6	Blue2 NB **

* recomendado para el ensayo BRET² y por el ensayo de luciferasa ChromaGlo

** recomendado para el ensayo NanoBRET™

El filtro de densidad neutra OD2 sirve para atenuar altos niveles de luz en un factor 100 (correspondiente a una absorbancia de 2 OD). Los valores resultantes son escalados automáticamente a conteos por segundo y se muestran en la pantalla de salida con los resultados del software.

Consulte desde la Figura 16 hasta la Figura 19 para conocer el espectro de transmisión de los filtros de luminiscencia.

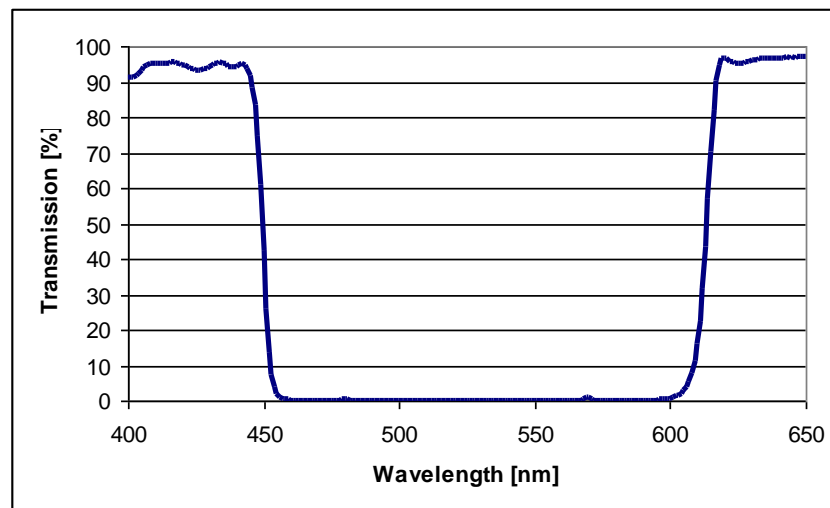


Figura 16: Espectro de transmisión del filtro **Lumi Magenta**

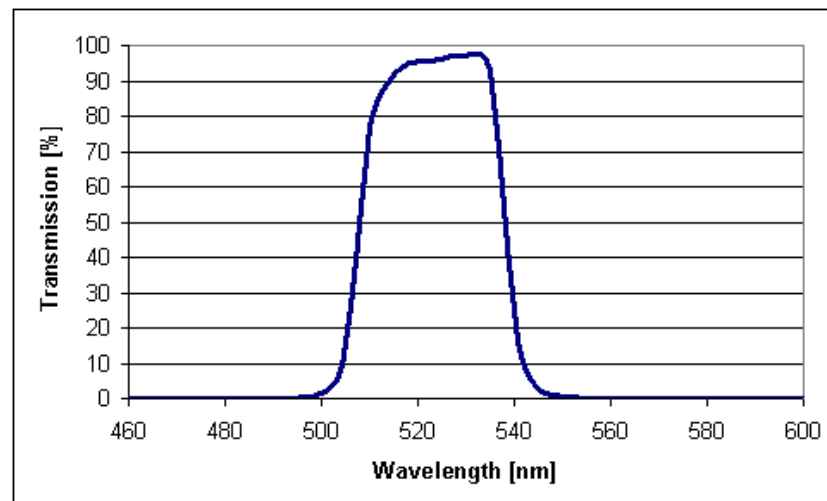


Figura 17: Espectro de transmisión del filtro **Lumi Green**

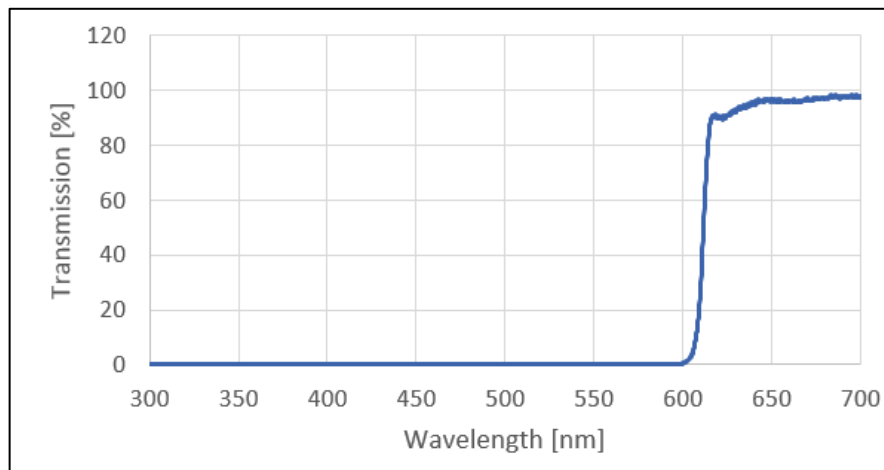


Figura 18: Espectro de transmisión del filtro **Red NB**

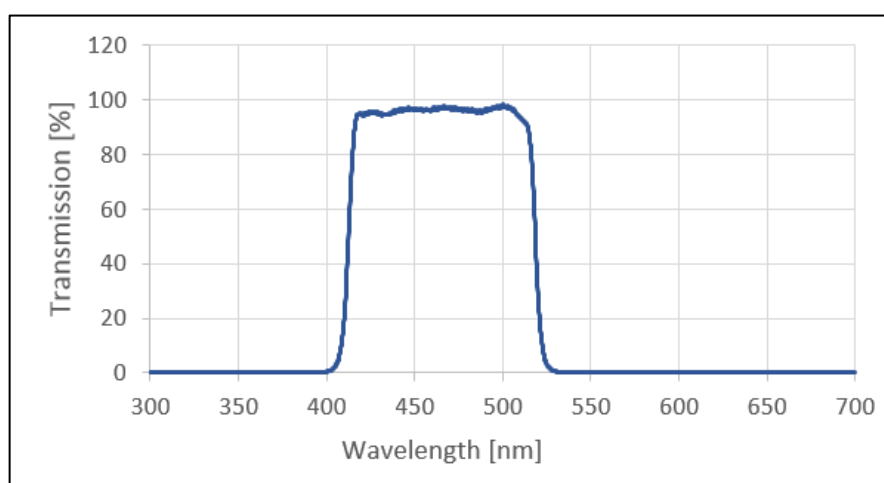


Figura 19: Espectro de transmisión del filtro **Blue2 NB**

2.5.7 Puerto para cubetas (configuraciones del Infinite M)

Las configuraciones del Infinite M pueden estar equipadas opcionalmente con un puerto para cubetas para las mediciones de absorbancia.

Para las mediciones de la absorbancia con el puerto para cubetas de las configuraciones del Infinite M se utiliza una ruta óptica similar a la de la excitación de fluorescencia.

El sistema de absorbancia consta de:

- Fuente de luz
- Monocromador de excitación
- Módulo de medición de la absorbancia de la cubeta
- Módulo de microplacas para absorbancia

La óptica tipo condensador enfoca la luz a través de los filtros de excitación y, seguidamente, de la ranura de entrada al monocromador de excitación. Un haz de fibras dirige a continuación la luz desde el monocromador hasta la óptica de la cubeta de absorbancia, que enfoca la luz a través de la cubeta. El módulo de medición de la cubeta de absorbancia está situado inmediatamente después del puerto para cubetas. Un fotodiodo de silicio mide la luz que se transmite a través de la muestra. Antes de medir la cubeta, se realiza una medición de referencia frente al aire con el puerto para cubetas desplazado respecto del haz de luz.

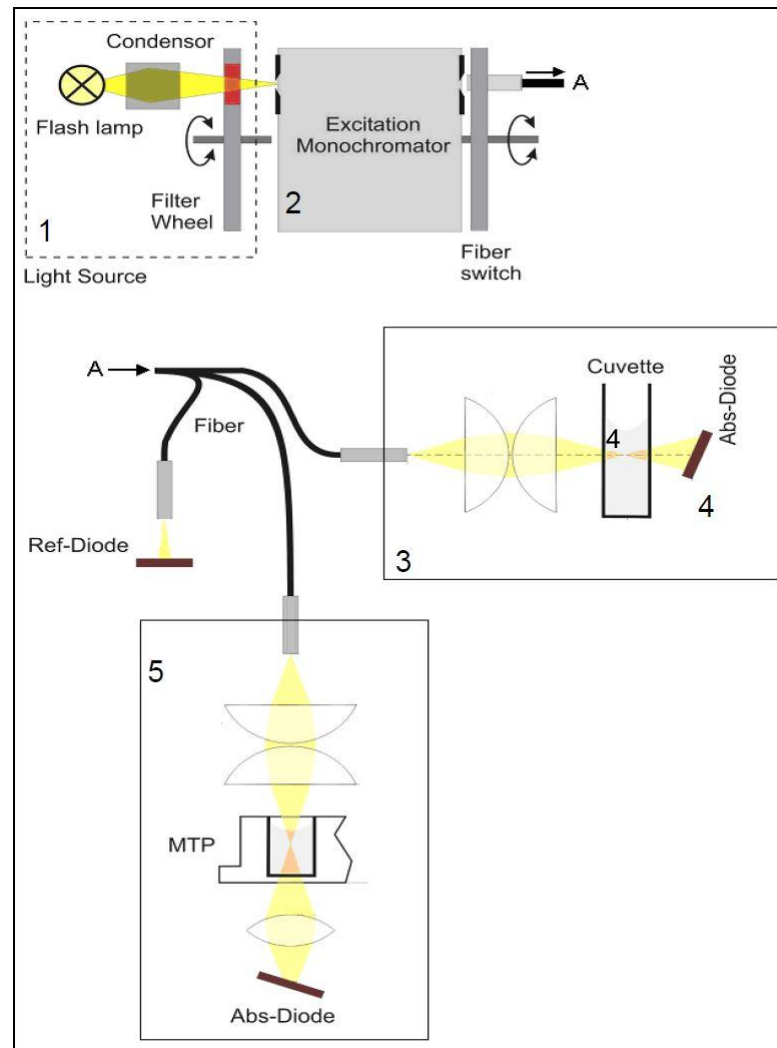


Figura 20: Sistema óptico del módulo de absorbancia de las configuraciones del Infinite M incluyendo el puerto para cubetas. La figura también muestra la ruta de luz del módulo de microplacas para absorbancia (5).

Para conocer detalles acerca de la fuente de luz (1) y el monocromador de excitación (2), consulte el capítulo 2.4.1 Fluorescencia - A Intensidad de la fluorescencia (FI).



Nota

El puerto para cubetas solamente es opcional en las configuraciones del Infinite M. Esta opción no está disponible para las configuraciones del Infinite F. Con las configuraciones del Infinite F, las cubetas se pueden medir utilizando un adaptador para cubetas Tecan situado sobre el transporte de placas.

Óptica de absorbancia en la cubeta

Un haz de fibras guía la luz desde el monocromador de excitación hasta la óptica de la cubeta de absorbancia.

Esta óptica consiste en un par de lentes enfocando al haz de luz hacia la cubeta.

En el punto focal, el diámetro del punto del haz luminoso de absorbancia es de 1,9 mm.

Cubeta para la detección de la absorbancia

Para la medida de la luz transmitida se utiliza un fotodiodo de silicio. Es sensible a una amplia gama de longitudes de onda. El fotodiodo es muy adecuado para los niveles luminosos encontrados en las mediciones de absorbancia por debajo de 4 OD. Los valores de medición por encima de 4 OD se señalan como **OVER** en la hoja de resultados.

Tipos de cubetas

El puerto para cubetas es compatible con las siguientes cubetas:

Tipo de cubeta	Anchura x Profundidad	Altura máxima (incluyendo la tapa)	Volumen de llenado	Ejemplo
Cubetas estándar	12,5 x 12,5 mm	55 mm	2 ml	Hellma 110 QS, 10 mm*
Macro cubetas Semi	12,5 x 12,5 mm	55 mm	1 ml	Hellma 108-QS, 10 mm*
Micro cubetas	12,5 x 12,5 mm	55 mm	0,5 ml	Hellma 104.002 QS, 10 mm*
Ultramicro cubetas	12,5 x 12,5 mm	55 mm	100 µl	Hellma 105.202, 10 mm*

No se pueden usar cubetas con una ventana de medida < 2 mm (de diámetro).



ATENCIÓN

USE SIEMPRE UN VOLUMEN DE LLENADO VÁLIDO. COMPRUEBE QUE EL NIVEL DEL LÍQUIDO EN LA CUBETA SUPERA LOS 20 MM (ALTURA). DE LO CONTRARIO, LA RUTA DE LUZ EN LA CUBETA PODRÍA NO LLENARSE COMPLETAMENTE DE LÍQUIDO, GENERANDO RESULTADOS DE MEDICIÓN INCORRECTOS.



ATENCIÓN

EL PUERTO PARA CUBETAS DE LAS CONFIGURACIONES DEL INFINITE M NO SE PUEDE UTILIZAR PARA CUBETAS CON UNA VENTANA DE MEDIDA < 2 MM (DE DIÁMETRO) Y UNA ALTURA DEL CENTRO POR DEBAJO DE 15 MM.

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

Introducción de la cubeta

El soporte de la cubeta está firmemente unido al portador de cubetas, y puede introducir y sacar la cubeta. El portador de cubetas es una parte integral del instrumento, y no se puede retirar.

Ventana de medida

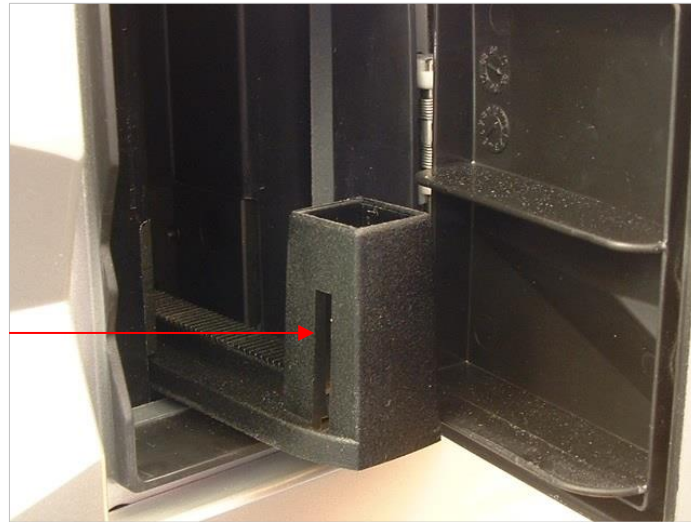


Figura 21: Puerto para cubetas para las configuraciones del Infinite M

La cubeta debe introducirse de modo que la ventana de medida de la cubeta coincida con la ventana de medida del soporte de la cubeta:

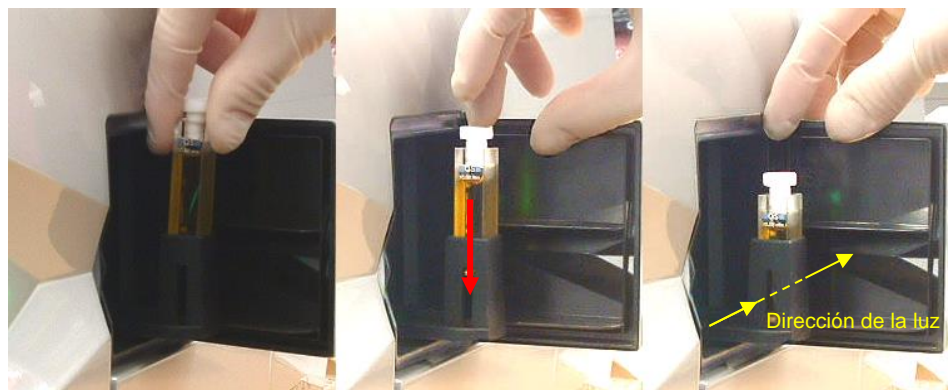


Figura 22: Cómo introducir la cubeta en el soporte de cubeta

3. Instalación

3.1 Desembalaje e inspección

El embalaje entregado incluirá los siguientes elementos:

- CABLE USB 2.0 A/B 1,8 M negro con receptáculo de ferrita
- Soporte de almacenamiento de software para configuraciones del Infinite F/Infinite M
- Informe de calidad del producto según sale de su embalaje
- Inmovilizador de transporte (colocado)
- Instrucciones de uso
- Protocolo de prueba final

El embalaje de las configuraciones del Infinite F incluye los siguientes artículos adicionales:

- Caja de accesorios
- Anillo de tope del filtro (8)
- Herramienta para el montaje de filtros
- Pinzas de plástico
- Placa de filtros

El embalaje del módulo inyector para un inyector incluye los siguientes elementos:

- Portabotellas
- Vaso de laboratorio para cebado
- Botella de 125 ml marrón
- Inyector simulado (colocado)
- Cuba de descarga
- Botella de 15 ml

El segundo inyector incluye los siguientes elementos:

- Portabotellas
- Vaso de laboratorio para cebado
- Cuba de descarga
- Botella de 15 ml



ATENCIÓN

EL LECTOR INFINITE HA SIDO PROBADO UTILIZANDO EL CABLE USB CON EL QUE SE SUMINISTRA. SI SE UTILIZA OTRO CABLE USB, TECAN AUSTRIA NO PUEDE GARANTIZAR EL FUNCIONAMIENTO CORRECTO DEL INSTRUMENTO.

3.1.1 Procedimiento de desembalaje

1. Antes de abrirlo, compruebe visualmente que el contenedor no está dañado. *Notifique inmediatamente cualquier daño.*
2. Para situar el instrumento, seleccione una ubicación plana, nivelada, sin vibraciones, alejada de la luz solar directa y libre de polvo, disolventes y vapores ácidos. Deje una distancia mínima de 10 cm entre la parte trasera del instrumento y la pared o cualquier otro equipo. Asegúrese de no golpear el portaplacas accidentalmente al sacarlo. Asegúrese de que el interruptor principal y el cable principal estén despejados y accesibles en todo momento.

3. Coloque la caja de cartón en posición vertical y ábrala.
4. Saque el instrumento de la caja y colóquelo en la ubicación elegida. Tenga cuidado al levantar el instrumento y asegúrese de sujetarlo a ambos lados.
5. Inspeccione el instrumento para ver si tiene partes sueltas, dobladas o rotas. *Notifique inmediatamente cualquier daño.*
6. Compare el número de serie que figura en el panel posterior del instrumento con el número de serie del albarán. *Notifique inmediatamente cualquier discrepancia.*
7. Compruebe los accesorios del instrumento con el albarán.
8. Guarde los materiales de embalaje y los inmovilizadores de transporte (consulte la siguiente sección) para posteriores transportes del instrumento.

**ADVERTENCIA**

EL LECTOR INFINITE ES UN INSTRUMENTO DE PRECISIÓN QUE PESA APROXIMADAMENTE 16 KG CUANDO ESTÁ COMPLETAMENTE EQUIPADO.

**ATENCIÓN**

LA CARGA MÁXIMA PARA LA CUBIERTA DEL LECTOR INFINITE ES DE 16 KG, SI BIEN DEBE ESTAR DISTRIBUIDA UNIFORMEMENTE POR TODA LA SUPERFICIE DE LA CUBIERTA.

**ATENCIÓN**

LA CARGA MÁXIMA PARA EL TRANSPORTE DE PLACAS ES DE 100 G. UNA SOBRECARGA DEL PORTAPLACAS PODRÍA DAÑAR EL INSTRUMENTO Y REQUERIR SU REPARACIÓN.

**ATENCIÓN**

DEJE UNA DISTANCIA MÍNIMA DE 10 CM ENTRE LA PARTE TRASERA DEL INSTRUMENTO Y LA PARED O CUALQUIER OTRO EQUIPO.

**ATENCIÓN**

EL INSTRUMENTO DEBE ESTAR SITUADO LEJOS DE LA INCIDENCIA DIRECTA DE LA LUZ SOLAR. UNA ILUMINACIÓN > 500 LUX PUEDE AFECTAR NEGATIVAMENTE A LAS MEDICIONES DE LA LUMINISCENCIA.

3.2 Retirada de los inmovilizadores de transporte



ATENCIÓN

ANTES DE UTILIZAR EL INSTRUMENTO, RETIRE EL INMOVILIZADOR DE TRANSPORTE.

El instrumento se suministra con el portaplasas inmovilizado en su posición para que no sufra daños. Para poder usar el instrumento, previamente se deben retirar los inmovilizadores de transporte siguiendo este procedimiento:

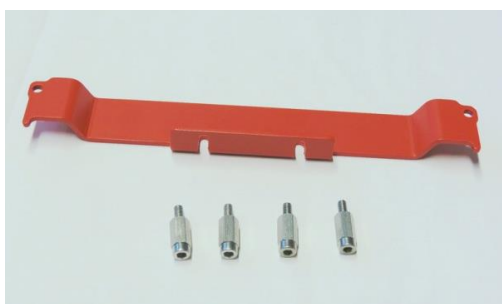
1. Asegúrese de que el instrumento está desconectado de la alimentación eléctrica.
2. Abra la solapa del compartimento del portaplasas.
3. Retire los tornillos y extraiga la placa tirando de ella manualmente.



4. Retire los tornillos del inmovilizador de transporte.



5. Retire el inmovilizador de transporte del portaplasas.



6. Guarde el inmovilizador de transporte para utilizarlo en futuros transportes.



ATENCIÓN

GUARDE LOS MATERIALES DE EMBALAJE Y EL INMOVILIZADOR DE TRANSPORTE POR SI NECESITARA TRANSPORTAR EL INSTRUMENTO. EL LECTOR INFINITE DEBE TRANSPORTARSE EXCLUSIVAMENTE CON EL EMBALAJE ORIGINAL Y CON EL INMOVILIZADOR DE TRANSPORTE INSTALADO.

3.3 Transporte y almacenamiento

3.3.1 Transporte

El lector Infinite debe transportarse utilizando el embalaje original y con el inmovilizador de transporte instalado. Antes de enviar el instrumento, debe ser desinfectado a fondo (consulte 7.4 Desinfección del instrumento).

3.3.2 Almacenamiento

Antes de almacenar el instrumento, deberá enjuagar los inyectores siguiendo un procedimiento de lavado (consulte 4.10.1 Cebado y lavado del lector Infinite). Para situar el instrumento, seleccione una ubicación plana, nivelada, sin vibraciones, alejada de la luz solar directa y libre de polvo, disolventes y vapores ácidos.

Especificaciones de almacenamiento

Temperatura	De -20 °C a +60 °C	De -4 °F a +140 °F
Humedad relativa	< 80 % sin condensación	

3.4 Requerimientos de energía eléctrica

El instrumento detecta el nivel de tensión automáticamente, por lo tanto no es necesario cambiar el rango de tensiones. Compruebe las especificaciones de tensión en el panel trasero del instrumento y asegúrese de que la tensión suministrada al instrumento es correcta para esas especificaciones.

El rango de tensiones es 100-120/220-240 V.

Si la tensión no es correcta, póngase en contacto con su distribuidor.



ATENCIÓN

NO USE EL INSTRUMENTO SI EL VALOR DE LA TENSIÓN NO ES CORRECTO. SI EL INSTRUMENTO SE ENCIENDE APLICÁNDOLE UNA TENSIÓN INCORRECTA, SE DAÑARÁ.



ADVERTENCIA

SI NO SE SIGUEN ADECUADAMENTE LAS INSTRUCCIONES INDICADAS EN ESTE DOCUMENTO, EL INSTRUMENTO RESULTARÁ DAÑADO O LOS PROCEDIMIENTOS NO SE REALIZARÁN CORRECTAMENTE, Y NO SE GARANTIZARÁ LA SEGURIDAD DEL INSTRUMENTO.

3.5 Encendido del instrumento



ATENCIÓN

ANTES DE ENCENDER EL INSTRUMENTO POR PRIMERA VEZ TRAS SU INSTALACIÓN, DEBERÁ DEJARLO REPOSAR DURANTE TRES HORAS COMO MÍNIMO QUE NO EXISTA LA POSIBILIDAD DE CORTOCIRCUITO DEBIDO A LA CONDENSACIÓN.

1. Asegúrese de que el ordenador esté APAGADO y el interruptor eléctrico principal del panel trasero del instrumento esté en la posición APAGADO.
2. Conecte el ordenador al instrumento con el cable de interfaz USB suministrado.
3. Conecte el cable de alimentación a la toma de alimentación eléctrica (con conexión a toma de tierra) del panel posterior del instrumento.
4. Todos los dispositivos eléctricos deben estar homologados y cumplir la reglamentación IEC 60950-1 para equipos informáticos – seguridad o normas locales equivalentes.
5. ENCIENDA el instrumento con el interruptor de encendido/apagado del panel posterior.



ATENCIÓN

EL LECTOR INFINITE HA SIDO PROBADO UTILIZANDO EL CABLE USB CON EL QUE SE SUMINISTRA. SI SE UTILIZA OTRO CABLE USB, TECAN AUSTRIA NO PUEDE GARANTIZAR EL FUNCIONAMIENTO CORRECTO DEL INSTRUMENTO.



ATENCIÓN

NO SUSTITUYA CABLES DE ALIMENTACIÓN DESCONECTABLES POR OTROS DE CARACTERÍSTICAS INADECUADAS.

4. Manejo del instrumento

4.1 Introducción

El lector Infinite se maneja mediante un software de control instalado en un ordenador personal. Se puede utilizar el software **i-control** o **Magellan** como interfaz de usuario. Para conocer más detalles, consulte las instrucciones de uso del correspondiente software. Esta breve introducción está destinada a que obtenga un conocimiento general sobre los parámetros y el funcionamiento del instrumento. En ella se ofrecen sugerencias sobre cómo optimizar los parámetros del instrumento para sus aplicaciones.

Se ha hecho un gran esfuerzo para garantizar que el instrumento funcione perfectamente incluso aunque los parámetros por defecto no sean apropiados para alguna aplicación en particular - con una importante excepción:



ATENCIÓN

CUANDO COLOQUE UNA MICROPLACA EN EL PORTAPLACAS, ASEGÚRESE EN TODO MOMENTO DE QUE HA SELECCIONADO EL ARCHIVO DE DEFINICIÓN DE PLACA CORRECTO (ALTURA DE PLACA) EN EL SOFTWARE ANTES DE SEGUIR ADELANTE. LA ALTURA MÁXIMA DE PLACA ES 23 MM (INCLUYENDO LA TAPA).



ATENCIÓN

ANTES DE EMPEZAR A HACER MEDIDAS, COMPRUEBE QUE LA POSICIÓN A1 DE LA MICROPLACA ESTÁ INSERTADA CORRECTAMENTE. LA POSICIÓN DE POCILLO A1 TIENE QUE ESTAR EN EL LADO SUPERIOR IZQUIERDO.



ATENCIÓN

EN CASO DE QUE EL TRANSPORTE DE PLACAS PRESENTE UNA SUCIEDAD CONSIDERABLE, EL MECANISMO DEL RESORTE PODRÍA NO FUNCIONAR CORRECTAMENTE, DANDO LUGAR A UNA COLOCACIÓN ERRÓNEA. CONTACTE CON SU CENTRO DE SERVICIO LOCAL.



ATENCIÓN

CUANDO TRABAJE CON EL LECTOR INFINITE, HÁGALO SIEMPRE SIGUIENDO LAS DIRECTRICES QUE DICTAN LAS BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO (GLP).



ATENCIÓN

EL LECTOR INFINITE TIENE UN VENTILADOR EN LA PARTE TRASERA DEL INSTRUMENTO QUE INTRODUCE AIRE. SE DEBE COMPROBAR EL FILTRO DE AIRE CADA 4 SEMANAS, Y SE SUSTITUIRÁ SI ESTÁ SUCIO. SE DEBE SUSTITUIR EL FILTRO DE AIRE AL CABO DE 6 MESES.

4.2 Características generales de funcionamiento

El lector Infinite presenta unos comportamientos y opciones que no dependen de la técnica de medición seleccionada.

4.2.1 Arranque del instrumento

Antes de ENCENDER el instrumento, compruebe que el cable de interfaz USB esté conectado.

Encendido del instrumento

Para encender el instrumento, no es necesario realizar ningún paso de inicialización.

Conexión al instrumento

Cuando el software se conecta con el instrumento, se establece una comunicación entre este y la interfaz de usuario.

Se deben seguir estos pasos:

- Se inicializan las ruedas de filtros OS (solo para configuraciones M).
- Se inicializa la rueda de filtros de luminiscencia.
- Se inicializa el transporte z de la óptica de luminiscencia.
- Se inicializa el transporte de placas.
(El transporte de placas no se desplaza hacia afuera de forma automática).
- Se muestran las versiones actuales del firmware y el software.
- El instrumento está listo para utilizarse.

4.3 Opciones generales

Se pueden seleccionar las siguientes opciones independientemente de la técnica de medición específica.



Nota

Para mantener la temperatura a un nivel constante y uniforme en toda la placa, esta debe colocarse en posición de incubación.

Cuando se utiliza la función de calentamiento mientras se agita, la temperatura puede variar ligeramente.

Control de temperatura

Algunos ensayos requieren un control riguroso de la temperatura. El lector Infinite puede configurar una temperatura determinada dentro de un rango concreto, ofrecer uniformidad a lo largo de la placa y mantenerla constante por encima del valor ambiental. Los ventiladores de refrigeración principales dejan de ventilar.

Calentar la cámara de medición requiere cierto tiempo. Compruebe la pantalla de control de temperatura. Si no se incuba externamente, antes de iniciar la medida se deberá dejar que la microplaca se equilibre.

Rango de temperatura: 5 °C sobre la temperatura ambiente hasta los 42 °C.

Mediciones cinéticas

i-control permite medir repetidamente una placa a intervalos de tiempo equidistantes. La señal de fluorescencia puede disminuir considerablemente a lo largo de un periodo de tiempo más prolongado, especialmente si se utilizan volúmenes pequeños. Dependiendo de la cantidad de evaporación, el menisco bajará de posición, dando lugar a un ligero desenfoque. Normalmente, los pocillos de la esquina se evaporan más rápidamente y, a continuación, los que están en el borde de la microplaca. Cuando se mide la fluorescencia, un descenso en la señal también puede provocar fotoblanqueo.

Agitación de las microplacas

El lector Infinite dispone de dos modos de agitación: lineal y orbital. La amplitud de agitación se puede seleccionar de 1 a 6 mm en pasos de 0,5 mm. La frecuencia es función de la amplitud. Se puede seleccionar la duración de la agitación entre 1 y 1000 segundos.

Etiquetado múltiple

El software **i-control** ofrece la posibilidad de realizar un etiquetado múltiple básico. Se pueden editar hasta cuatro conjuntos de parámetros del instrumento. Se realizarán las mediciones en la placa correspondiente en el orden seleccionado. Por ejemplo, al utilizar más de una etiqueta fluorescente, se pueden seleccionar diferentes combinaciones de filtros. Se puede configurar una medición con etiqueta múltiple utilizando una banda para placas con/sin una banda para un **lado de la placa** y hasta 10 bandas para medición (longitud de onda fija de absorbancia, exploración de absorbancia, intensidad de fluorescencia, exploración de la intensidad de fluorescencia, luminiscencia).

4.4 Definición de placas de filtros (configuraciones del Infinite F)

4.4.1 Acerca de los filtros

Filtros de fluorescencia

Los filtros ópticos (tipo paso banda) de una placa de filtros están especialmente diseñados para medir la fluorescencia. El rechazo espectral y el ancho de banda de los filtros de fluorescencia están optimizados para conseguir una sensibilidad excelente.

Póngase en contacto TECAN para solicitar filtros distintos a los incluidos en las placas de filtros suministradas.

Filtros de absorbancia

Los filtros paso banda, normalmente usados en lectores de microplacas para mediciones de la absorbancia, suelen tener un ancho de banda de 10 nm. Por tanto, no se recomienda usar filtros de fluorescencia para mediciones de absorbancia, ya que el ancho de banda (FWHM) normalmente es mayor de 10 nm. Esto podría causar un error en el valor del brillo o bajos valores de OD al medir colorantes con picos estrechos.

4.4.2 Placa de filtros y orientación de los filtros

Placa de filtros

La placa de filtros de las configuraciones del Infinite F consta de un lado para la excitación y otro para la emisión. La placa de filtros permite al usuario trabajar con cuatro parejas de filtros de excitación/emisión, que pueden definirse en las posiciones 1 a 4. La información sobre los filtros introducidos se guarda en el microchip integrado.

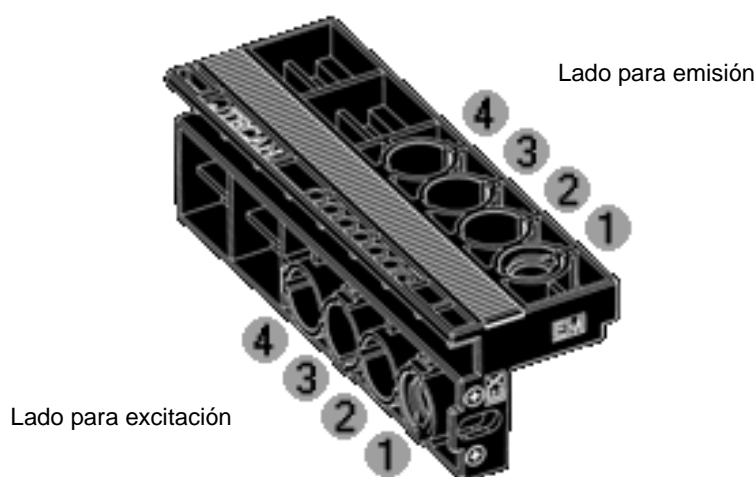


Figura 23: Configuraciones del Infinite F: Placa de filtros

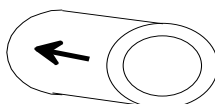
Tipos de filtro



ATENCIÓN

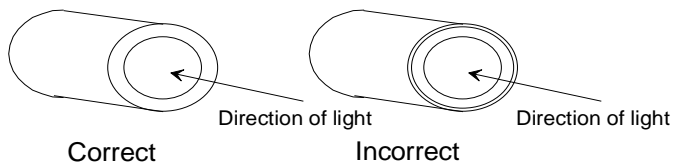
EXISTEN DOS TIPOS DE FILTROS. ES IMPORTANTE QUE LA LUZ VIAJE A TRAVÉS DE AMBOS TIPOS DE FILTRO EN LA DIRECCIÓN CORRECTA. ANTES DE INTRODUCIR UN FILTRO NUEVO, EXAMINE DETENIDAMENTE EL FILTRO Y LA DIRECCIÓN DE LA LUZ A TRAVÉS DE LA PLACA DE FILTROS.

Filtros con una flecha en el lateral:



La luz debe viajar en la dirección de la flecha.

Filtros sin una flecha en el lateral:



El extremo del filtro con el borde de metal debe mirar en dirección contraria a la fuente de luz.

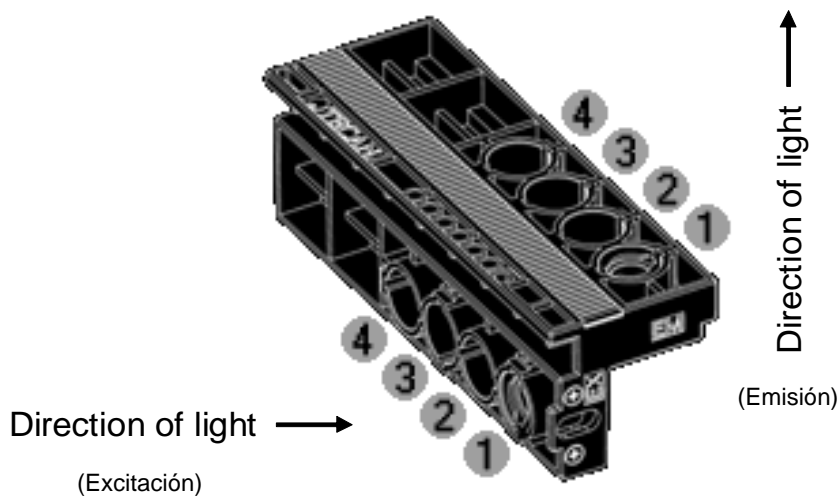


Figura 24: Configuraciones del Infinite F: Placa de filtros - dirección de la luz

Posición de los filtros polarizados



Nota

Las mediciones de la polarización de fluorescencia en el Infinite F Plex requieren dos filtros de excitación y emisión idénticos colocados junto con los polarizadores en las posiciones 1 y 2 o 3 y 4.

La placa de filtros del Infinite F Plex puede estar equipada con un máximo de dos pares de filtros de polarización de fluorescencia, ya que cada medición de la polarización de fluorescencia requiere dos filtros de excitación y emisión idénticos, colocados junto con los polarizadores en las posiciones 1 y 2 o 3 y 4.

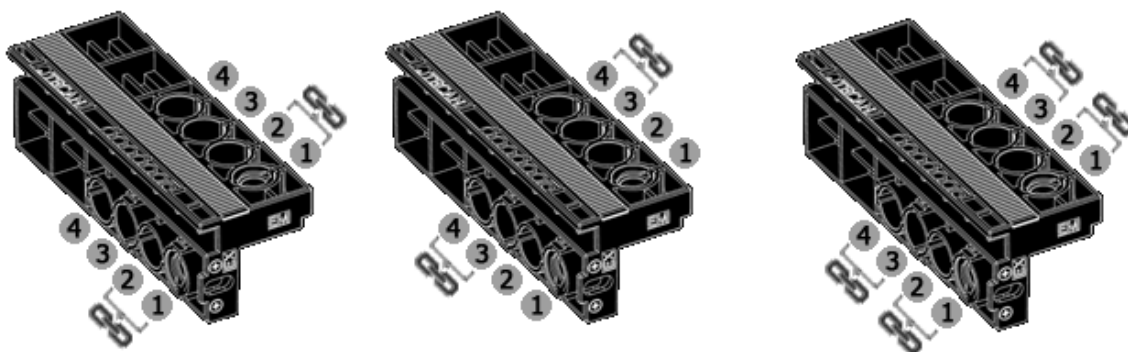


Figura 25: Infinite F Plex: Placa de filtros indicando las posiciones de los filtros de polarización de fluorescencia y los polarizadores.

4.4.3 Instalación de un filtro personalizado

Al instalar un nuevo filtro, utilice la herramienta para el montaje de filtros incluida en la caja de accesorios. Para la instalación de los polarizadores, utilice las pinzas blandas (plástico).

Extracción de un filtro

Alinee la herramienta para el montaje de filtros con la muesca del anillo de tope. Gire la herramienta y retire el anillo de tope sacándolo de la ranura del filtro.



Anillo de tope

El filtro saldrá de la ranura al darle la vuelta al portafiltros. No utilice la herramienta de montaje de filtros para extraer filtros.

Instalación de un filtro personalizado

Se debe introducir un filtro (y un polarizador) nuevo en la placa tal y como se muestra a continuación.



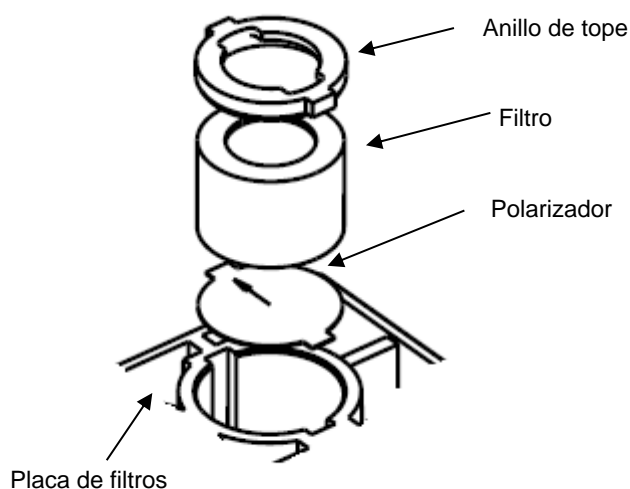
Nota

Asegúrese de introducir correctamente los filtros (consulte los tipos de filtros). Para garantizar un funcionamiento correcto, no reutilice los anillos de tope más de 5 veces.



ATENCIÓN

ASEGÚRESE DE INTRODUCIR LOS POLARIZADORES Y LOS FILTROS POR LA PLACA DE FILTROS CUANDO ESTÉ TRABAJANDO CON POLARIZACIÓN DE FLUORESCENCIA.



ATENCIÓN

LOS FILTROS SON COMPONENTES ÓPTICOS DE PRECISIÓN QUE SE DEBEN MANIPULAR POR LOS BORDES Y NO SE DEBEN RAYAR NI ALMACENAR BOCA ABAJO EN UN CAJÓN. UNA VEZ QUE LOS FILTROS ESTÉN INSTALADOS EN LA PLACA, ESTARÁN RELATIVAMENTE BIEN PROTEGIDOS, PERO DEBE PONERSE CUIDADO AL MANIPULARLOS O ALMACENARLOS.

Para instalar un filtro personalizado, proceda de esta manera:

En caso necesario, introduzca con cuidado un polarizador en la mitad de excitación y emisión de la placa de filtros utilizando unas pinzas, con cuidado de no rayarlo ni dejar marcadas las huellas dactilares.

Introduzca cuidadosamente el filtro en la abertura, con cuidado de no rayarlo ni dejar marcadas las huellas dactilares.

Coloque el anillo de tope en el extremo de la herramienta para el montaje de filtros y gírelo para que no se salga.



Herramienta para el montaje de filtros con anillo de tope

Utilizando la herramienta para el montaje de filtros, empuje el anillo de tope hasta introducirlo en la ranura del filtro y apriételo firmemente en su lugar de colocación.

Gire la herramienta hasta que la muesca del anillo de tope esté alineada con el extremo de la herramienta para el montaje y retire la herramienta.

Si queda alguna abertura sin utilizar una vez introducidos los filtros necesarios (p.ej. el lado para emisión de un filtro de absorbancia), deberán colocarse filtros simulados en los orificios que queden abiertos.

4.4.4 Definición de filtros



ATENCIÓN

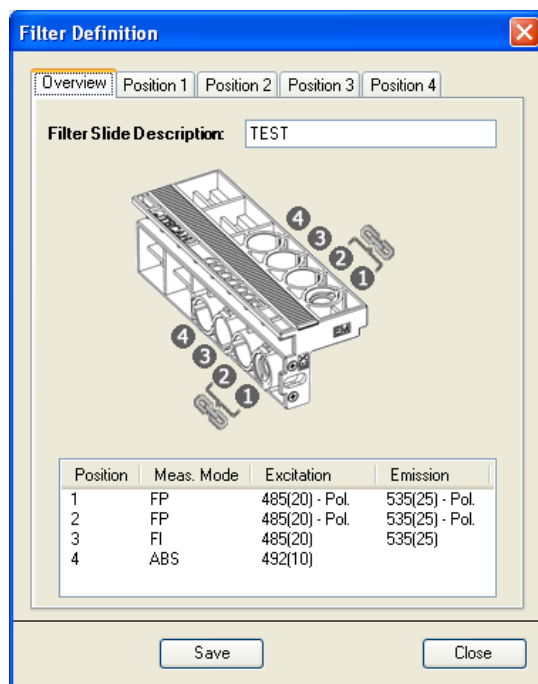
¡LOS CAMBIOS EN LOS FILTROS DE LA PLACA DE FILTROS DEBEN REALIZARLOS PERSONAL FORMADO! EL INSTRUMENTO PUEDE RECONOCER LAS PLACAS DE FILTROS PREDEFINIDAS Y USTED NO DEBE INTENTAR CAMBIAR LOS VALORES DE FILTRO. NO OBSTANTE, SI SE HAN CAMBIADO LOS FILTROS DE LA PLACA DE FILTROS (POR PARTE DE UN INGENIERO DE SERVICIO) O SI VA A USAR UNA NUEVA PLACA DE FILTROS PERSONALIZADA AÚN NO DEFINIDA, ES PRECISO DEFINIR DICHAS PLACAS DE FILTROS.*

***DEPENDIENDO DE LA FRECUENCIA DE USO Y DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES, LOS FILTROS ÓPTICOS SE PUEDEN DETERIORAR CON EL TIEMPO Y, POR TANTO, TENER UNA VIDA ÚTIL LIMITADA.**

Defina un filtro (par) como sigue:

Seleccione Definición de los filtros en el menú Ajustes.

Se mostrará la siguiente ventana de diálogo donde se ve una pestaña resumen y cuatro pestañas con la definición de los filtros:



Resumen: El resumen indica al usuario la definición de la placa de filtros actual.

Descripción de la placa de filtros: Introduzca la descripción de la placa de filtros; si no, será generada automáticamente.



Nota

Para la descripción de las placas de filtros no se permiten caracteres especiales (espacio, ?, \$, %, ., /, etc.), excepto «_».



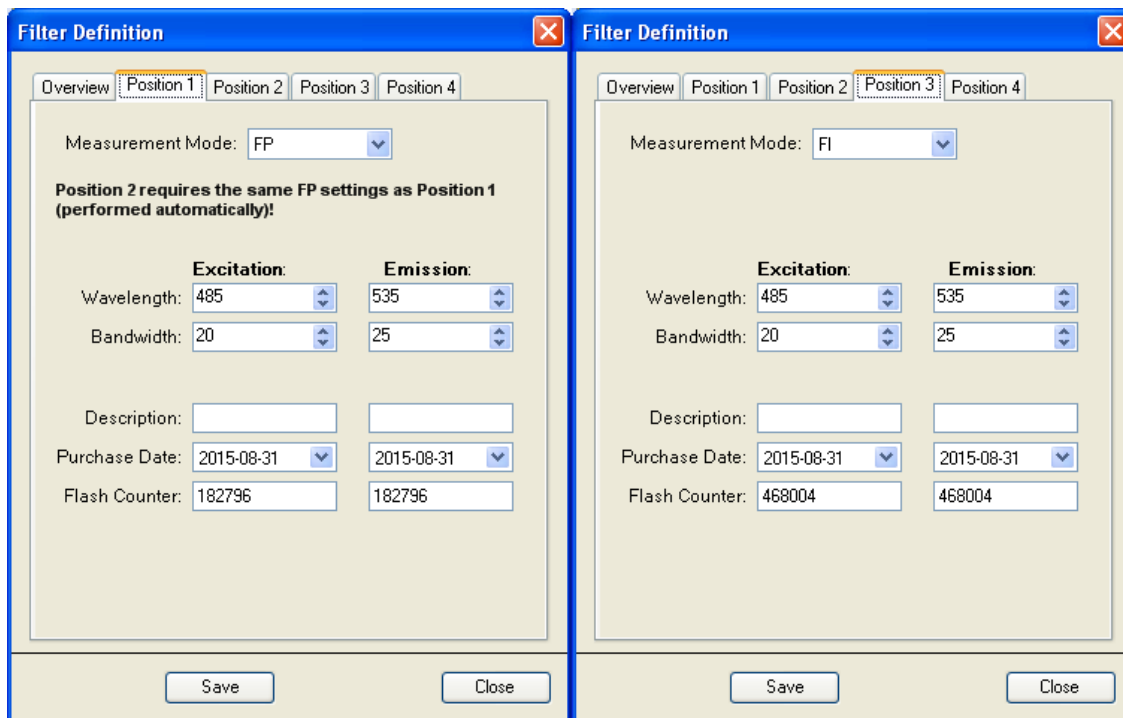
ATENCIÓN

LA DESCRIPCIÓN DE LA PLACA DE FILTROS ES PARTE DEL VALOR CLAVE DEL FACTOR G. SI LO INTRODUCE MANUALMENTE, EVITE UTILIZAR LA MISMA DESCRIPCIÓN PARA DIFERENTES PLACAS DE FILTROS.

Posición 1 - 4: Editor de la definición de los filtros (pares de filtros) en posiciones 1, 2, 3 y 4.

Seleccione la posición del filtro adecuada e introduzca la nueva longitud de onda, ancho de banda y modo de medición para cada nuevo filtro:

Measurement Mod: (Modo de medición) elija entre la lista desplegable **FI** para intensidad de la fluorescencia, **ABS** para absorbancia, **FP** para polarización de fluorescencia y **Empty** (vacío) para posiciones sin filtros



Filter Definition (Position 1 selected)

Measurement Mode: FP

Position 2 requires the same FP settings as Position 1 (performed automatically)!

	Excitation:	Emission:
Wavelength:	485	535
Bandwidth:	20	25

Description:

Purchase Date: 2015-08-31 2015-08-31

Flash Counter: 182796 182796

Buttons: Save, Close

Filter Definition (Position 3 selected)

Measurement Mode: FI

	Excitation:	Emission:
Wavelength:	485	535
Bandwidth:	20	25

Description:

Purchase Date: 2015-08-31 2015-08-31

Flash Counter: 468004 468004

Buttons: Save, Close



Nota

El modo de medición de fluorescencia en la posición 1 requiere los mismos ajustes del filtro en la posición 2 y viceversa. El modo de polarización de fluorescencia en la posición 3 requiere los mismos ajustes del filtro en la posición 4 y viceversa. Se realiza de forma automática.



ATENCIÓN

ASEGÚRESE DE QUE LA PLACA DE FILTROS CONTenga POLARIZADORES JUNTO CON LOS FILTROS DEFINIDOS PARA LA POLARIZACIÓN DE FLUORESCENCIA.

Longitud de onda: Introduzca una longitud de onda para el filtro dentro del siguiente rango:

- (1) Modo de intensidad de la fluorescencia: de 230 a 850 nm (excitación) y de 280 a 850 nm (emisión)
- (2) Polarización de fluorescencia: de 300 a 850 nm (excitación) y de 330 a 850 nm (emisión)
- (3) Modo de absorbancia: de 230 a 1000 nm

Ancho de banda: Introduzca el ancho de banda (nm) del filtro

(4) Acepte los valores del nuevo filtro haciendo clic en **Guardar**. Al cerrar el cuadro de diálogo Definición del filtro, el sistema estará listo para recopilar datos con los nuevos filtros.

Descripción: Este campo se puede utilizar para comentarios personales del usuario acerca del filtro, por ejemplo, nombre del filtro, aplicación, etc.



Nota

Para la descripción de las placas de filtros no se permiten caracteres especiales (espacio, ?, \$, %, ., /, etc.), excepto «_».

Fecha de compra: Esta opción permite al usuario introducir la fecha de compra o de instalación del filtro

Contador de destellos: El contador de destellos monitoriza el número de destellos a través de un filtro. El número del contador de destellos solamente proporciona al usuario información adicional acerca del filtro en uso. El número del contador de destellos se guarda junto con otra información sobre el filtro en el microchip de la placa de filtros.

Si sustituye un filtro, esta información se perderá a menos que el usuario documente a mano el número de destellos del último filtro.

Cuando coloque un filtro nuevo a estrenar, ajuste el contador a 0. Si utiliza un filtro previamente utilizado, introduzca el último número de destellos recogido si está disponible.

**ATENCIÓN**

ES RECOMENDABLE QUE DOCUMENTE MANUALMENTE EL ÚLTIMO NÚMERO DEL RECuento DE DESTELLOS ANTES DE SUSTITUIR UN FILTRO; DE LO CONTRARIO, ESTA INFORMACIÓN SE PERDERÁ.

**ATENCIÓN**

NO INTRODUZCA PLACAS DE FILTROS SI EL INSTRUMENTO NO ESTÁ ENCENDIDO Y CONECTADO.

4.5 Optimización de medidas de fluorescencia

Los resultados de medidas de fluorescencia se pueden optimizar, por un lado, afinando los parámetros de los instrumentos y, por otro lado, seleccionando los materiales apropiados.

4.5.1 Parámetros del instrumento

Ajustes de ganancia

El sistema de detección de la fluorescencia de las configuraciones del Infinite utiliza una conversión de analógico a digital (ADC: conversor analógico digital) de una señal de PMT. El ajuste de ganancia controla la amplificación del PMT al convertir la luz de fluorescencia en corriente eléctrica. El ADC requiere un rango de entrada adecuado en la corriente del PMT para poder proporcionar, por un lado, una relación señal-ruido (S/N) adecuada y, por otro lado, linealidad. Por tanto, habrá que afinar la ganancia para que las microplacas con la concentración más alta proporcionen las lecturas más altas posibles. A continuación, se separan las lecturas de los pocillos de la microplaca con menor concentración del fondo (siempre que el nivel de ruido de fondo lo permita).



Nota

Si a cualquier pocillo de interés se le asigna OVER (desbordamiento), puede reducir manualmente la ganancia o bien seleccionar una opción de ganancia automática (consulte las instrucciones de uso del software).

Propiedades del PMT

Se puede seleccionar una ganancia para la intensidad de la fluorescencia entre 1 y 255. El rendimiento del PMT dependerá de la tensión de alimentación. La especificación de los PMT del lector Infinite va desde 300 hasta 1250 V. La relación entre los ajustes de la ganancia del lector Infinite y el suministro de tensión se describe en Ecuación 1. Por tanto, el uso previsto para el PMT del lector Infinite está especificado para ajustes de ganancia entre 60 y 255. Es posible tener ajustes de ganancia por debajo de 60, si bien no se especifica el rendimiento del PMT para un suministro de tensión < 300 V. Por eso, Tecan no se responsabiliza de los resultados de medición del Infinite cuando se utilizan ajustes de ganancia por debajo de 60.

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

Ecuación 1:

Donde U es la tensión, Gain es el ajuste de ganancia seleccionado, 255 es la ganancia máxima posible y 1250 V es la tensión de alimentación máxima del PMT.

Ejemplo:

Una ganancia de 100 corresponde a un suministro de tensión de 490 V:

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

Ecuación 2:

4.5.2 Optimización Z (mediciones de FI en la parte superior solo en configuraciones del Infinite M)

Una característica útil de las configuraciones del **Infinite M** es el procedimiento de optimización Z. La optimización Z solamente está disponible para mediciones de FI en la parte superior con las configuraciones del Infinite M). Para un ensayo concreto, este procedimiento se deberá realizar una vez para determinar la distancia de trabajo óptima entre la muestra en la placa y la óptica de fluorescencia.

La posición Z se puede determinar como sigue:

(1) **Manual:**

Cuando se utiliza la opción **manual**, se puede introducir un valor numérico de la posición Z en la casilla de la medición. La posición Z manual por defecto es 20 000 µm.

(2) **Calculated from well:**

Al usar la opción **calculated from well** (calculado a partir de un pocillo), las configuraciones del **Infinite M** identificarán automáticamente la posición Z de la señal máxima en el pocillo seleccionado para posteriores mediciones.

(3) **Same as** (mismo que) para mediciones con etiquetado múltiple:

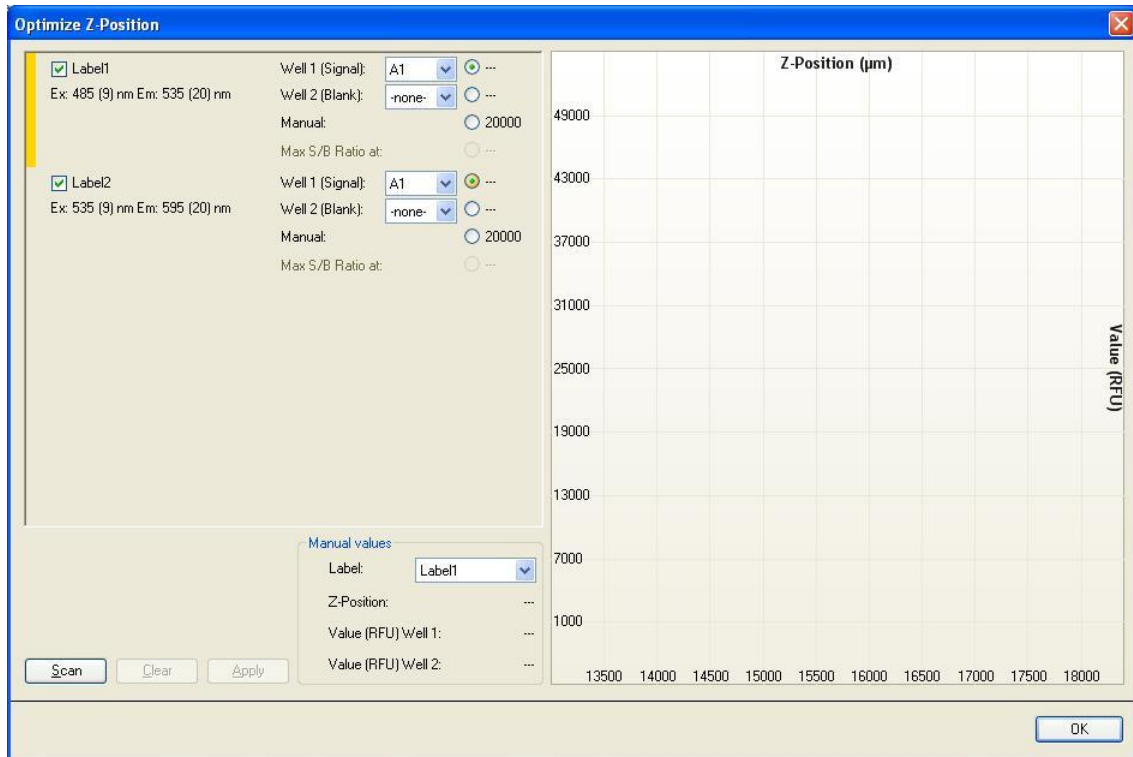
Al utilizar la opción **same as**, las configuraciones del **Infinite M** utilizarán automáticamente la misma posición Z que para una etiqueta previamente definida.

P.ej., en una casilla con 2 etiquetas de FI parte superior con los nombres Etiqueta 1 y Etiqueta 2, la posición Z de la Etiqueta 1 también se puede utilizar para la Etiqueta 2 seleccionando la opción **Same as = Label 1**.

(4) **Instrument → Z-Position:**

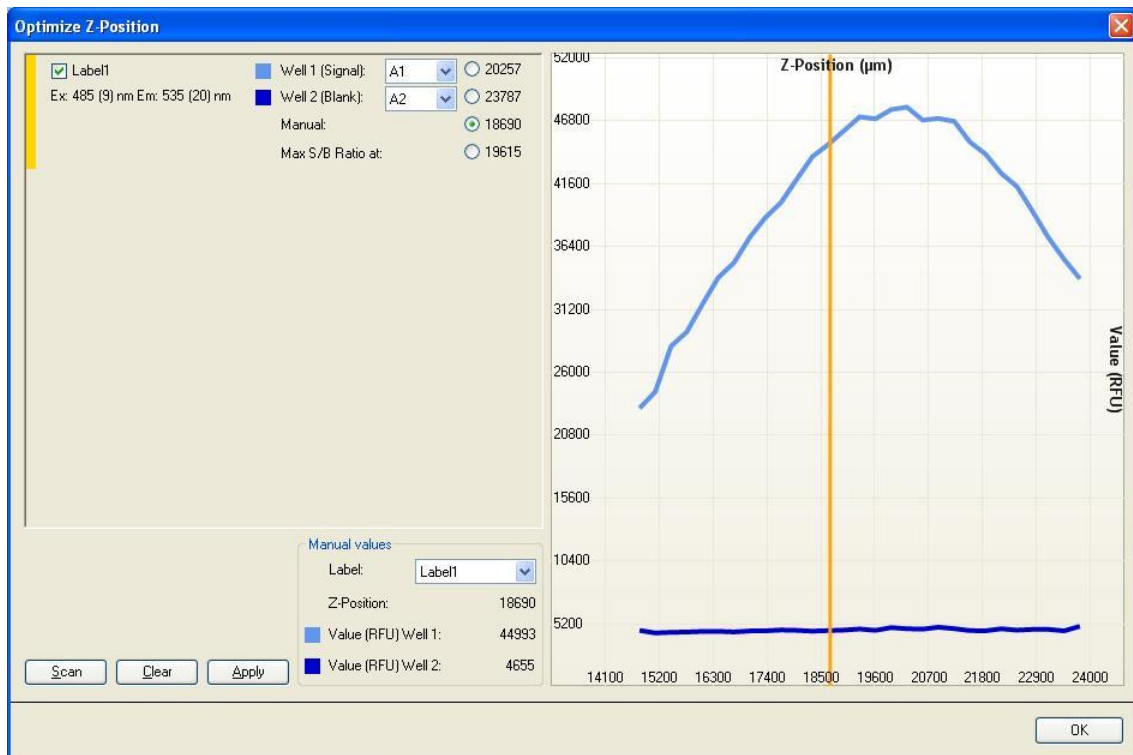
Cuando se utiliza la función **Z-position** (posición Z) del instrumento, el usuario puede determinar la posición Z adecuada a partir de una representación gráfica que indica el pocillo o pocillos utilizados para determinar la posición Z. El valor seleccionado se aplicará al resto de mediciones.

Seleccione **Z-Position** desde el menú **Instrument** (instrumento):

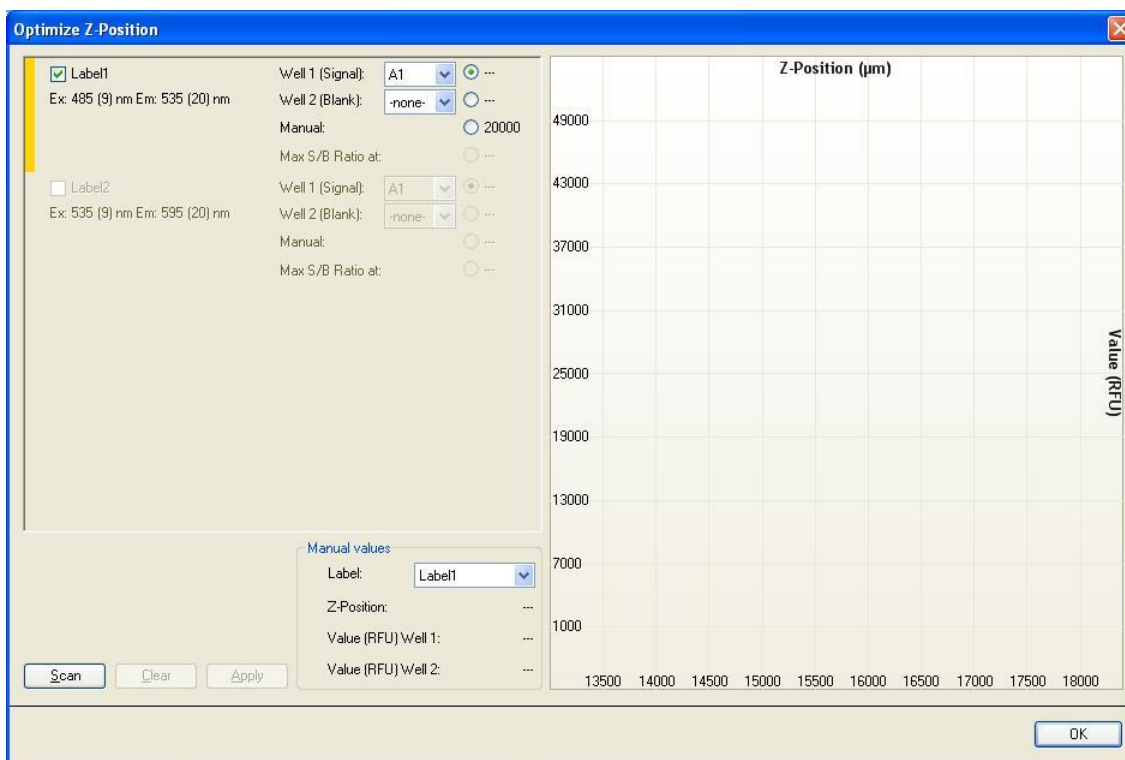


Seleccione la etiqueta o etiquetas para las que deba optimizarse la posición Z. La posición Z óptima se puede determinar simultáneamente para un máximo de 4 etiquetas.

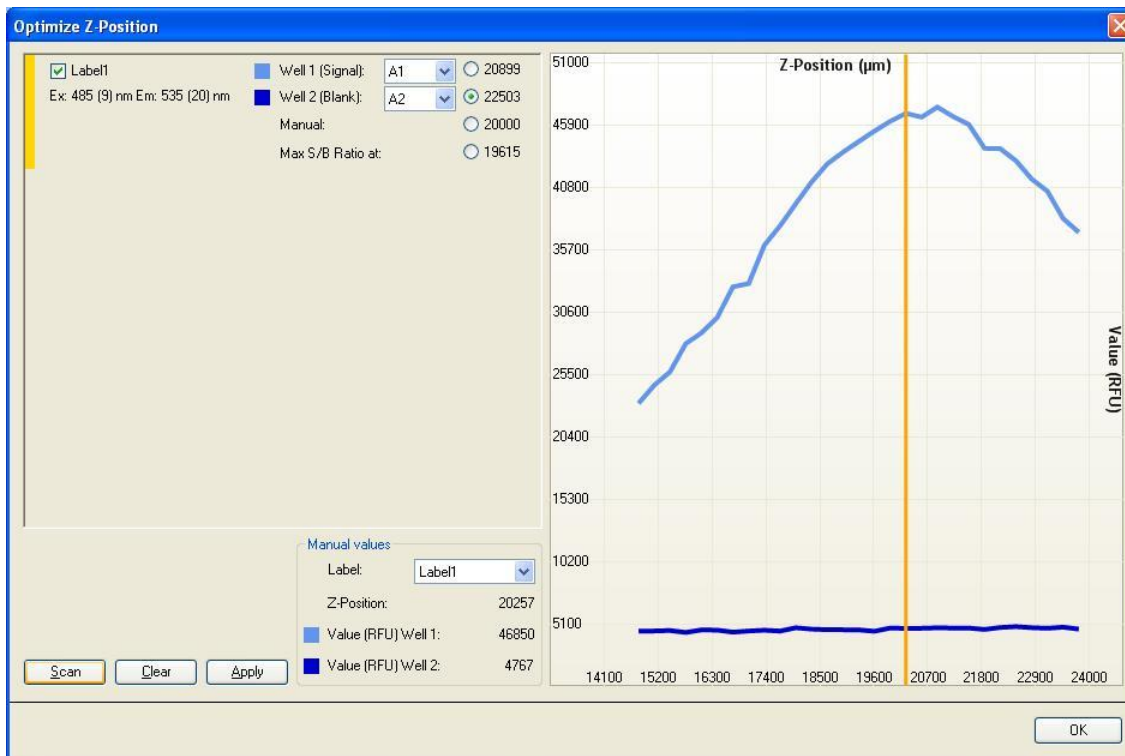
La selección/número de etiquetas dependerá de la casilla de medición anteriormente definida en el software i-control. Adicionalmente, si la posición Z de una de las etiquetas está definida como **Same as**, dicha etiqueta se mostrará pero no se podrá seleccionar para la optimización Z:



Para cada etiqueta seleccionada se pueden usar uno o dos pocillos de la placa definida para la optimización de la posición Z. Seleccione el o los pocillos y haga clic en **Scan** (explorar) para comenzar la optimización Z:



La opción para la determinación de la posición Z **Max S/B Ratio** (relación S/B máx.) requiere la medición de dos pocillos, uno lleno con un fluoróforo de interés (señal) y uno lleno con búfer (blanco). Se exploran ambos pocillos, y la señal resultante y las curvas del blanco se muestran en el gráfico. Ya se puede ajustar la posición Z a la relación señal/blanco (S/B) máxima:

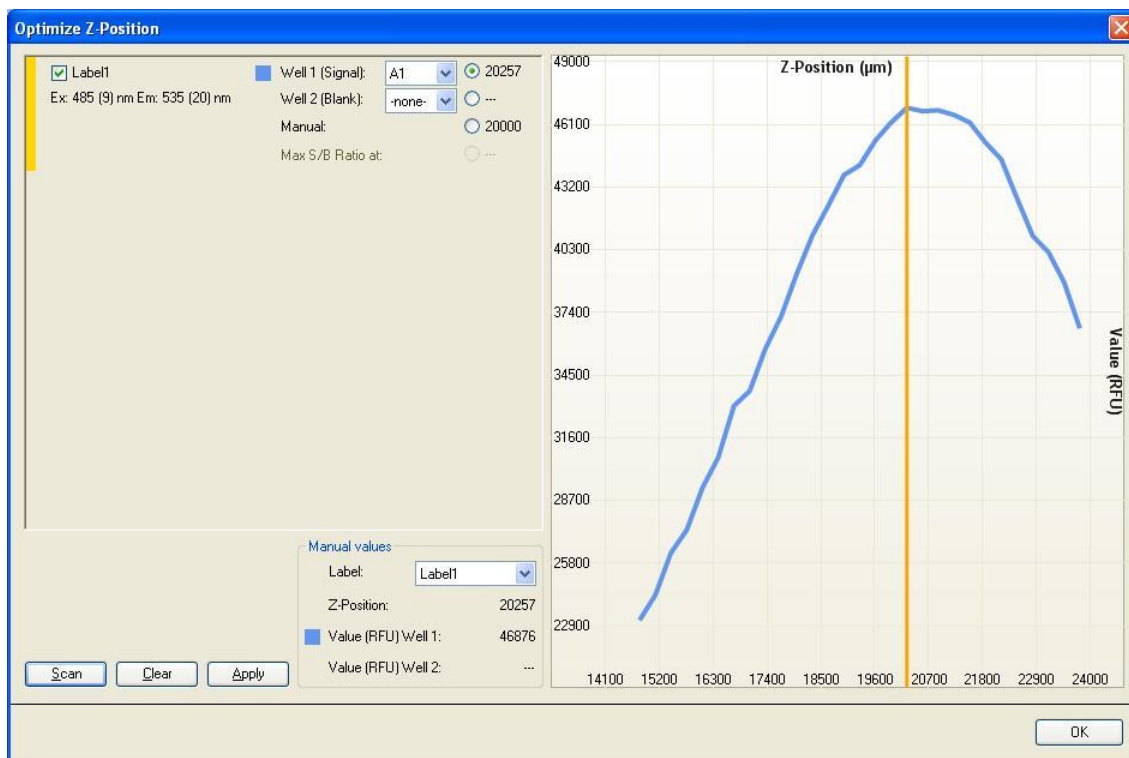




Nota

Cuando se utiliza la opción Max S/B Ratio, el pocillo de la muestra se mide en primer lugar con la ganancia óptima y, a continuación, se aplica ese mismo valor de la ganancia a la segunda medición con el pocillo con el blanco. Por lo tanto, las curvas de señal y de blanco son directamente comparables.

La posición Z para cada una de las etiquetas seleccionadas se puede definir manualmente. En el recuadro del gráfico, la barra vertical amarilla se puede desplazar hasta la posición Z deseada.



Haciendo clic en **Apply** (aplicar), la posición Z seleccionada será aplicada de forma automática a la casilla de i-control, y se utilizará para la medición subsiguiente.

Ajustes del flash

Es posible realizar mediciones sobre la marcha con 1 (lectura) flash por pocillo para cualquier tipo de placa; sin embargo, la precisión de la medición a bajos niveles dependerá del tiempo de lectura durante el que se pueda recibir una señal de fluorescencia.



Nota

Aumente el número de destellos (lecturas) por pocillo hasta que el ruido de los pocillos BLANCOS ya no mejore más, o hasta que el tiempo de medida por pocillo sea inaceptable.

Para la fluorescencia inmediata, no servirá de nada aumentar el tiempo de integración predeterminado, ya que el detector no recibirá más señal una vez se haya desvanecido el flash.

Parámetros de sincronización para la fluorescencia resuelta en el tiempo

Para la TRF, se deben ajustar los parámetros de integración de la señal de acuerdo con la etiqueta. El inicio del tiempo de integración de la señal tiene una demora con respecto al flash precedente, correspondiente al retardo (Lag Time). Los parámetros de sincronización de la TRF se pueden establecer con el siguiente procedimiento:

Como punto de partida, se puede tomar el tiempo de vida de fluorescencia de la etiqueta tanto para el tiempo de integración como para el retardo.

Afinación aproximada: al fijar el tiempo de integración se reduce el retardo, maximizando así la relación señal/fondo (S/B).

Afinación precisa: habiendo fijado el retardo, amplíe el tiempo de integración y compruebe si sigue mejorando la relación S/B.

Afinación precisa opcional: fijando uno de los parámetros de sincronización, puede modificar el otro y comprobar si sigue mejorando la relación S/B.

Tiempo de asentamiento

Antes de medir un pocillo, puede ajustar un tiempo de asentamiento. Debido al movimiento de parada y arranque del portaplacas, el menisco del líquido dispensado puede estar aún vibrando mientras se integra la señal. Esto podría dar lugar a fluctuaciones de los valores medidos. Se ha observado este efecto en pocillos de placas con 96 pocillos y en pocillos de mayor tamaño. En particular, resulta crítico con las mediciones de absorbancia.

4.5.3 Modo relación FI

Modo de relación

Se pueden medir hasta 4 etiquetas por pocillo. Este modo de medición se llama **ratio mode** (modo de relación). Tenga en cuenta que no se realiza ningún cálculo de **ratio** (relación) tras realizar esta medición. La hoja Excel de resultados muestra los datos sin procesar. El usuario deberá realizar cálculos adicionales.

Tiempo de cambio del filtro (configuraciones del Infinite F)/ Tiempo de cambio de la longitud de onda (configuraciones del Infinite M)

Las configuraciones del Infinite F pueden cambiar entre dos filtros en 250 ms en caso de que las etiquetas seleccionadas se midan con la misma ganancia. De no ser así, el tiempo de cambio será de 400 ms. En dicho caso, se deberá cambiar el nivel de alta tensión en el PMT. La alta tensión aplicada al PMT necesita cierto tiempo para estabilizarse.

Las configuraciones del Infinite M pueden cambiar entre dos longitudes de onda en 150 ms en caso de que las etiquetas seleccionadas se midan con la misma ganancia y sin que intervenga ningún punto de conmutación de separación de órdenes (OS) (consulte la Tabla 1: para ver los puntos de conmutación). De no ser así, el tiempo de cambio será de 400 ms. En dicho caso, se deberá cambiar el nivel de alta tensión en el PMT. La alta tensión aplicada al PMT necesita cierto tiempo para estabilizarse. Es necesario mover la rueda de filtros OS.

	Longitud de onda de excitación	Longitud de onda de emisión
Punto de conmutación OSF 1	316 nm	401 nm
Punto de conmutación OSF 2	386 nm	621 nm
Punto de conmutación OSF 3	561 nm	-

Tabla 1: *Puntos de conmutación de los OSF (filtros de separación de órdenes) (Configuraciones del Infinite M)*

Ejemplo:

Fura-2: Esta aplicación implica el uso de un conmutador de longitudes de onda del filtro que varía entre 340 y 380 nm en el lado de la excitación. La emisión se mide a unos 510 nm. El conmutador de longitudes de onda del filtro no incluye ningún conmutador OS, por lo que la conmutación podrá realizarse en 150 ms con una configuración del Infinite M y en 250 ms con una configuración del Infinite F.

4.6 Mediciones de la FP

4.6.1 Polarización de fluorescencia

La polarización de fluorescencia (FP, P) se define mediante la siguiente ecuación:

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

Ecuación 3:

donde I_{\parallel} e I_{\perp} son iguales a la intensidad de emisión de la luz polarizada paralela y perpendicular al plano de excitación respectivamente. La polarización es una unidad adimensional, y se expresa generalmente en unidades mP.

Para comenzar una medición de FP, la banda para el programa debe contener un **Blank range** (rango del blanco) de medición válido y unos ajustes del **G-Factor** (factor G) válidos.

4.6.2 Rango de medición del blanco

La reducción del blanco de medición se realiza automáticamente con cada medición de polarización de fluorescencia; el valor promedio de los respectivos pocillos blancos se resta de cada valor de la muestra (consulte 4.6.8).

En el cuadro de grupo **Measurement** (medición), seleccione el **Blank range** (rango del blanco) haciendo clic en **Change** (cambiar) y seleccionando los pocillos que estén llenos del blanco de medición (muestra).

4.6.3 Ajustes del factor G

La ecuación dada para el cálculo de la polarización de fluorescencia asume que la sensibilidad del sistema de detección es equivalente para la luz polarizada paralela y perpendicular. Este no suele ser el caso, y hay que corregir o bien la intensidad paralela o perpendicular mediante el llamado **G-Factor** (factor G). El factor G compensa las diferencias en los componentes ópticos entre la medición paralela y perpendicular.

El factor G es el factor de corrección que se puede determinar para la longitud de onda del fluoróforo midiendo una muestra con un valor de polarización conocido. Lograr una calibración válida de un instrumento que genere un factor G es un requisito importante para cada medición de la polarización de fluorescencia.



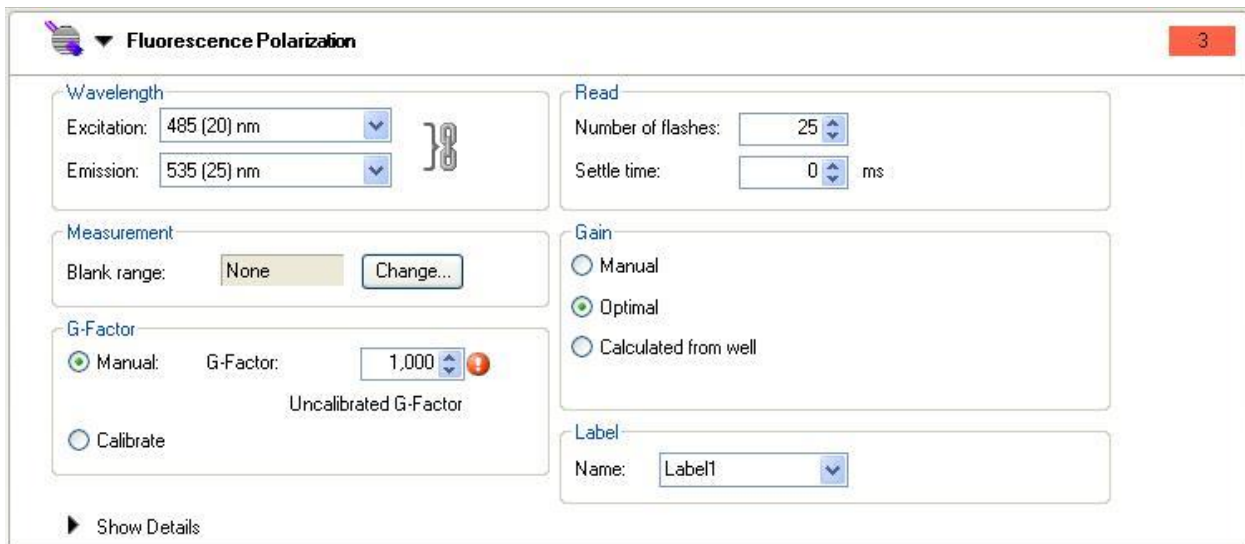
ATENCIÓN

ASEGÚRESE DE QUE LA PLACA DE FILTROS CONTenga POLARIZADORES JUNTO CON LOS FILTROS DEFINIDOS PARA LA POLARIZACIÓN DE FLUORESCENCIA. LA REALIZACIÓN DE MEDICIONES SIN LOS POLARIZADORES PODRÍA DAR LUGAR A UN FACTOR G Y UNOS DATOS DE MEDICIÓN FALSOS.

4.6.4 Medición con un factor G sin calibrar

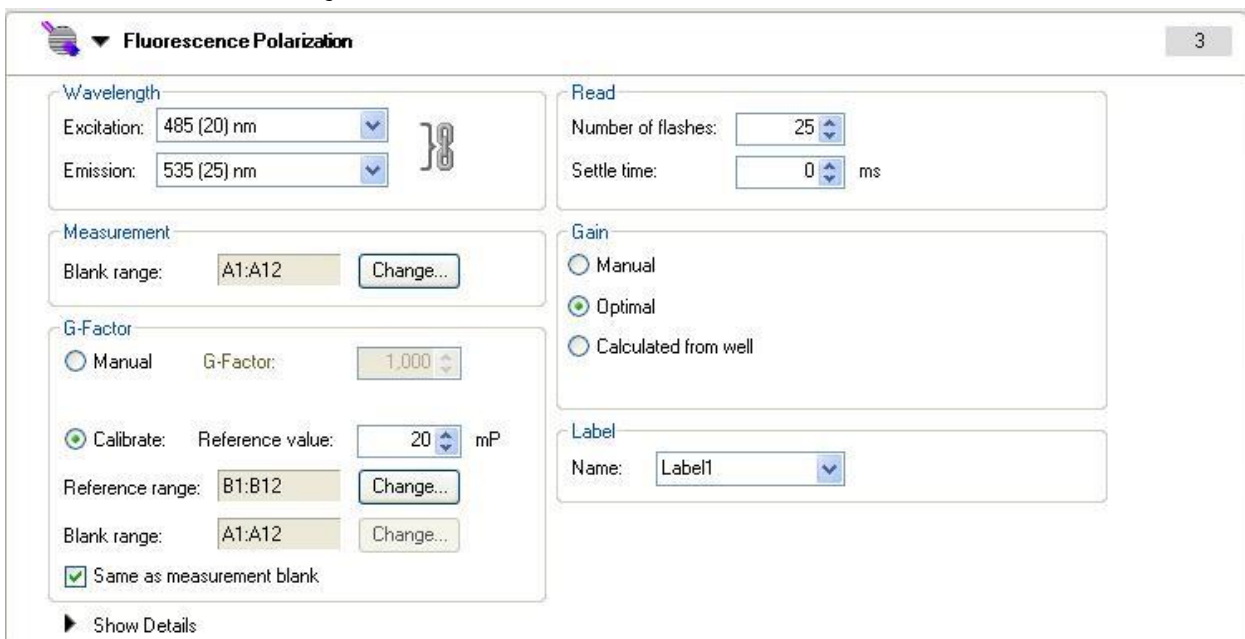
Si no hay disponible un factor G calibrado, se mostrará el valor por defecto 1, y se marcará como **Uncalibrated G-Factor** (factor G sin calibrar). Con el fin de permitir la medición, confirme este valor o seleccione uno nuevo, bien haciendo clic en las flechas arriba/abajo o bien introduciendo un nuevo valor en el campo **G-Factor**.

Para calibrar el factor G, consulte 4.6.5.



The screenshot shows the 'Fluorescence Polarization' configuration window. The 'Wavelength' section has Excitation set to 485 (20) nm and Emission to 535 (25) nm. The 'Read' section has Number of flashes set to 25 and Settle time to 0 ms. The 'Measurement' section has Blank range set to 'None'. The 'G-Factor' section has 'Manual' selected, with the G-Factor value set to 1,000, which is marked as 'Uncalibrated G-Factor'. The 'Gain' section has 'Optimal' selected. The 'Label' section has the name 'Label1'. A 'Show Details' button is at the bottom left.

4.6.5 Medición y calibración simultáneas del factor G



The screenshot shows the 'Fluorescence Polarization' configuration window. The 'Wavelength' section has Excitation set to 485 (20) nm and Emission to 535 (25) nm. The 'Read' section has Number of flashes set to 25 and Settle time to 0 ms. The 'Measurement' section has Blank range set to 'A1:A12'. The 'G-Factor' section has 'Calibrate' selected, with a Reference value of 20 mP and Reference range set to 'B1:B12'. The 'Blank range' is also set to 'A1:A12', with a checkbox for 'Same as measurement blank' checked. The 'Gain' section has 'Optimal' selected. The 'Label' section has the name 'Label1'. A 'Show Details' button is at the bottom left.

Al seleccionar **Calibrate** (calibrar), se determina el factor G para los parámetros de medición actuales, y se utiliza para la siguiente medición de la FP. Para realizar la calibración del factor G, deberá definir:

Reference value (valor de referencia): seleccione un valor de polarización para la referencia utilizada, por ejemplo 20 mP para una solución de fluoresceína 1 nM en NaOH 0,01 M.

Reference range (rango de referencia): haga clic en **Change** (cambiar) y seleccione los pocillos que estén llenos con la referencia.

Blank range (rango del blanco): haga clic en **Change** (cambiar) y seleccione los pocillos que estén llenos con el blanco de referencia. Seleccione **Same as measurement blank** (mismo que el blanco de la medición) si el blanco de referencia es el mismo que el blanco de la medición.



Nota

Al usar más de un pocillo relleno con referencia y con blanco de referencia se calcularán los valores medios y, por lo tanto, el resultado de la calibración del será más preciso.

Almacenamiento del factor G

El factor G calculado se almacena automáticamente en el disco duro del ordenador. Cada entrada del factor G corresponde a la selección del par de filtros y a la descripción de la placa de filtros. Siempre hay un único factor G disponible para la respectiva combinación de pares de filtros y descripción de la placa de filtros, a menos que se haya utilizado el mismo par de filtros con diferentes placas de filtros y, por tanto, se hayan almacenado con diferentes descripciones de la placa de filtros.



ATENCIÓN

LA DESCRIPCIÓN DE LA PLACA DE FILTROS ES PARTE DEL VALOR CLAVE DEL FACTOR G. EVITE EL USO DE LA MISMA DESCRIPCIÓN DE LA PLACA DE FILTROS PARA DIFERENTES PLACAS, YA QUE AFECTARÁ AL CORRECTO RECONOCIMIENTO DEL FACTOR G.

4.6.6 Medición con un factor G calibrado



Nota

Una vez calibrado, el factor G se mostrará y se podrá utilizar inmediatamente si coincide con el par de longitudes de onda de Ex/Em y con la descripción de la placa de filtros.

Se mostrará un factor G calibrado automáticamente, o bien podrá cargarse haciendo clic en el botón >> solo si coincide con el par de filtros de polarización de fluorescencia seleccionados y con la descripción de la placa de filtros.

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 says 'Calibrated G-Factor, 18.01.2010 by kaff1 au'. The 'Gain' section has 'Optimal' selected. The 'Label' section has 'Name' set to 'Label1'. A 'Show Details' button is at the bottom left.

El factor G calibrado está marcado como **Calibrated G-Factor** con la fecha y la firma.

4.6.7 Medición con un factor G manual

Si el factor G mostrado no coincide con el valor calibrado (p.ej. si el factor G ha sido modificado manualmente o se ha cargado con un método), el valor correspondiente estará marcado como **Manual G-Factor**.

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 says 'Manual G-Factor'. The 'Calibrated G-Factor' text is no longer present.

Se puede restablecer el factor G calibrado haciendo clic en el botón >> a la izquierda del factor G mostrado.



Nota
El ajuste del factor G a través del botón >> solamente será posible si hay un valor del factor G calibrado disponible para la correspondiente longitud de onda.

4.6.8 Cálculo de parámetros de polarización de fluorescencia

Factor 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} ... Polarization value of reference [P]

\overline{RFU}_{ref} ... Averaged relative fluorescence units of reference

\overline{RFU}_{buf} ... Averaged relative fluorescence units of buffer

Reducción del blanco:

El valor medio de los respectivos pocillos blancos se resta de cada valor.

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

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

Intensidades:

Se calculan las intensidades paralela y perpendicular utilizando las siguientes fórmulas:

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

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

Polarización:

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

Anisotropía:

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

Intensidad total:

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

4.7 Optimización de medidas de absorbancia

4.7.1 Parámetros de medición

Ajustes del flash

Es posible realizar mediciones sobre la marcha con 1 (lectura) flash por pocillo para cualquier tipo de placa; sin embargo, la precisión de la medición a bajos niveles dependerá del tiempo de lectura durante el que se pueda recibir una señal de fluorescencia.



Nota

Aumente el número de destellos (lecturas) por pocillo hasta que el ruido de los pocillos BLANCOS ya no mejore más, o hasta que el tiempo de medida por pocillo sea inaceptable.

Tiempo de asentamiento

Se puede configurar un tiempo de asentamiento antes de la medición de un pocillo (crítico para mediciones de absorbancia). Debido al movimiento de parada y arranque del portaplacas, el menisco del líquido dispensado puede estar aún vibrando mientras se integra la señal. Esto podría dar lugar a fluctuaciones de los valores medidos. Se ha observado este efecto en pocillos de placas con 96 pocillos y en pocillos de mayor tamaño.

4.7.2 Modo de relación de absorbancia

Modo de relación

Utilizando la pestaña **Standard** (estándar) en el software i-control se pueden medir hasta 4 etiquetas por pocillo. Este modo de medición se llama **ratio mode** (modo de relación). Tenga en cuenta que no se realiza ningún cálculo de **ratio** (relación) tras realizar esta medición. La hoja Excel de resultados muestra los datos sin procesar. El usuario deberá realizar cálculos adicionales.

Utilizando la pestaña **Applications** (aplicaciones) en el software i-control junto con la placa NanoQuant Plate, el software Excel calcula automáticamente los datos sin procesar para **Quantifying Nucleic Acids** (cuantificación ácidos nucleicos) y **Labeling Efficiency** (eficiencia del etiquetado) para la concentración o para el cálculo de su relación. Si se prefiere, los valores se pueden utilizar para realizar cálculos adicionales.

Tiempo de cambio de longitud de onda (configuraciones del Infinite M)/filtro (configuraciones del Infinite F)

Las configuraciones del Infinite F pueden pasar de un filtro a otro cercano en 250 ms.

Las configuraciones del Infinite F pueden pasar de una longitud de onda a otra en 150 ms.

Para conocer las condiciones, consulte 4.5.3 Modo relación FI.

4.8 Lecturas múltiples por pocillo

El software i-control permite que se realicen lecturas múltiples por pocillo (MRW) en modo absorbancia, fluorescencia en la parte superior y fluorescencia en la parte inferior.

Las lecturas múltiples por pocillo se pueden activar en una banda para programa de intensidad de la absorbancia o fluorescencia seleccionando la casilla **Multiple Reads per Well** (consulte la Figura 26 a continuación).

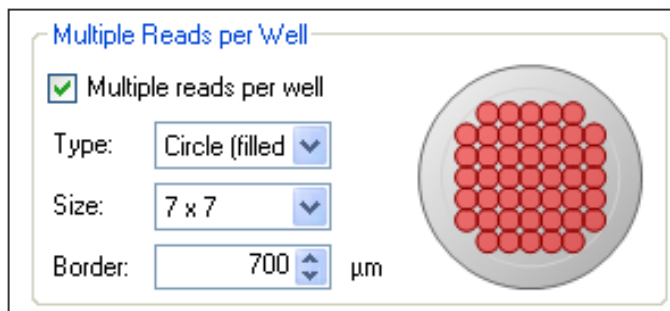


Figura 26: Lecturas múltiples por pocillo



Nota

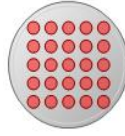
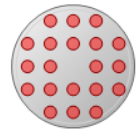
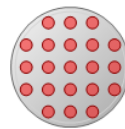
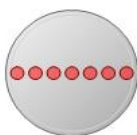
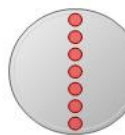
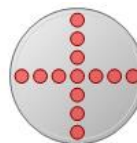
La función Multiple Reads per Well solamente está disponible para los modos de lectura de longitudes de onda de absorbance (absorbancia), fluorescence intensity top (intensidad de fluorescencia parte superior) y fluorescence intensity bottom (intensidad de fluorescencia parte inferior). La función no está disponible para medidas de exploración.

4.8.1 Tipo de MRW

Los tipos de MRW definen el patrón según el que se va a realizar la medición. El software permite seleccionar hasta siete tipos de MRW diferentes:

- Cuadrado
- Cuadrado (lleno)
- Círculo
- Círculo (lleno)
- Línea en el eje X
- Línea en el eje Y
- Líneas en los ejes X e Y

Ejemplos de patrones:

Cuadrado:**Cuadrado (lleno):****Círculo:****Círculo (lleno):****Línea en el eje X:****Línea en el eje Y:****Líneas en los ejes X e Y:**

4.8.2 Tamaño del MRW

El tamaño del MRW determina el número de puntos que se van a medir en un pocillo. Dependiendo del tipo de microplaca y del instrumento, y de la configuración del Infinite F o del Infinite M, el **tamaño** puede variar desde 1 x 1 hasta un máximo de 15 x 15 puntos. El diámetro de cada uno de los puntos de medición corresponderá al diámetro teórico calculado del haz de luz en el punto focal (consulte la Tabla 2).

Modo de medición	Configuraciones del Infinite M	Configuraciones del Infinite F
Intensidad de fluorescencia parte superior	3 mm	2 mm
Intensidad de fluorescencia abajo	2 mm	2 mm
Absorbancia (óptica de la microplaca)	0,7 mm	0,5 mm

Tabla 2: Diámetro teórico del haz calculado en el punto focal.

El tipo de MRW mostrado en el software es, por tanto, solamente una visión general esquemática del patrón de medición. Al medir muestras reales, el patrón puede variar y el solapamiento de los puntos de medición individuales puede ser ligeramente diferente al patrón mostrado. Por tanto, es recomendable optimizar los parámetros de Lecturas múltiples por pocillo para cada nueva aplicación.

4.8.3 Borde para MRW

Además de **Size** (tamaño) y **Type** (tipo), hay una función **Border** (borde) que permite al usuario seleccionar una determinada distancia entre el haz de luz y la pared del pocillo de dicha microplaca (distancia en μm). Como ya se indicó en el capítulo 4.8.2, el software muestra solamente una visión general esquemática del patrón de medición. La distancia al borde se calcula a partir del diámetro teórico de haz del instrumento. Sin embargo, al medir muestras líquidas, el diámetro del haz de luz está afectado por el tipo y cantidad de líquido presente en un pocillo.

Además, el tipo de placa (p.ej. el material del fondo de la microplaca) también influye en las características del haz de luz. Por tanto, la distancia teórica al borde mostrada por el software no se corresponde con la real al medir una muestra. Por eso, es muy recomendable optimizar los parámetros de **Multiple Reads per Well** (Lecturas múltiples por pocillo) para cada nueva aplicación. Asegúrese de que la distancia al borde seleccionada garantice suficiente espacio entre el haz de luz y la pared de la microplaca.



ATENCIÓN

TODAS LAS ESPECIFICACIONES DE INTENSIDAD DE LA ABSORBANCIA Y LA FLUORESCENCIA QUE APARECEN EN ESTE DOCUMENTO SOLAMENTE SERÁN VÁLIDAS PARA MEDICIONES EN UN SOLO PUNTO (UN PUNTO DE MEDICIÓN POR POCILLO). AL UTILIZAR LA OPCIÓN LECTURAS MÚLTIPLES POR POCILLO, LAS ESPECIFICACIONES NO TENDRÁN VALIDEZ.



ATENCIÓN

EL SOFTWARE MUESTRA SOLAMENTE UNA VISIÓN ESQUEMÁTICA DEL PATRÓN DE MEDICIÓN. POR TANTO, DEBERÁ OPTIMIZAR LOS PARÁMETROS DE LECTURAS MÚLTIPLES POR POCILLO PARA CADA NUEVA APLICACIÓN. ASEGÚRESE DE QUE LA DISTANCIA AL BORDE SELECCIONADA SEA SUFICIENTEMENTE GRANDE PARA EVITAR EL SOLAPAMIENTO ESPACIO ENTRE EL HAZ DE LUZ Y LA PARED DE LA MICROPLACA.



ATENCIÓN

UN VALOR DEL BORDER (BORDE) DEMASIADO PEQUEÑO PODRÍA DAR LUGAR A UNOS RESULTADOS DE MEDICIÓN INCORRECTOS DEBIDO AL SOLAPAMIENTO ENTRE EL HAZ DE LUZ Y LA PARED DEL POCILLO DE LA MICROPLACA.

4.8.4 Representación de resultados en MS Excel

La hoja de resultados en MS Excel generada por el software i-control muestra una visión gráfica esquemática (**Multiple Reads per Well – Alignment**; consulte la Figura 28) de los puntos de medición. A cada punto de medición se le asigna un número. Los resultados se representan en forma de lista: número del punto de medición frente al valor del resultado (OD o RFU; consulte la Figura 27: Gráfica de ajuste (línea XY, 3 x 3) para obtener más información sobre el resultado de una medición de fluorescencia). Además, la desviación estándar (**Stdev**) y el valor promedio (**Mean**) de los puntos de medición/pocillo también se representan:

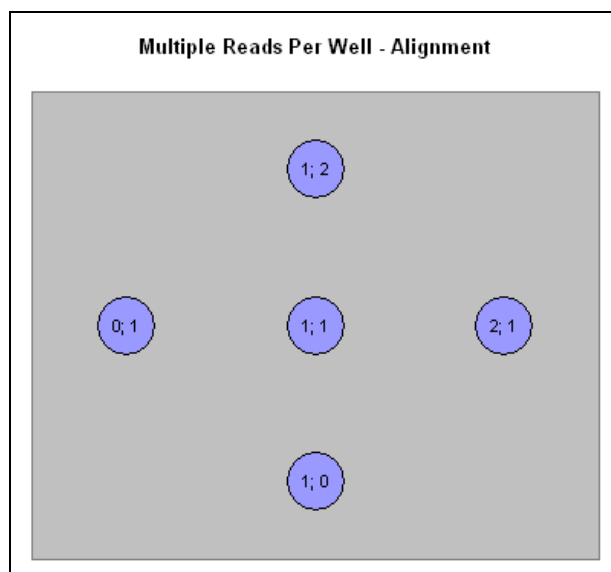


Figura 27: Gráfica de ajuste (línea XY, 3 x 3)

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

Figura 28: Ejemplo de una lista de resultados en MS Excel generada por i-control.

4.8.5 Diferentes características del software para MRW

MRW solamente está disponible para los modos de medición **Absorbance** (Absorbancia), **Fluorescence Intensity Top** (Intensidad de fluorescencia parte superior) y **Fluorescence Intensity Bottom** (Intensidad de fluorescencia parte inferior).

La función MRW no estará activada al realizar mediciones en los pocillos.

Reference Wavelength (Longitud de onda de referencia, ubicada en la banda para absorbancia) no está disponible en combinación con **Multiple Reads per Well**.

4.9 Optimización de las mediciones de luminiscencia



ATENCIÓN

ENCIENDA EL INSTRUMENTO AL MENOS 15 MINUTOS ANTES DE EMPEZAR A HACER UNA MEDIDA DE LUMINISCENCIA. ALGUNOS COMPONENTES DEBEN CALENTARSE PARA GARANTIZAR UNAS CONDICIONES ESTABLES PARA LA MEDICIÓN.

4.9.1 *Tiempo de integración*

A niveles de luz muy bajos, un PMT no genera una corriente de salida continua, necesaria para lograr una conversión fiable de analógico a digital. En su lugar, produce una secuencia de impulsos cuyo promedio se puede medir utilizando un contador. La ventaja de la técnica de conteo de fotones con unos niveles tan bajos de luz es que el criterio de selección de la altura del impulso permite discriminar el ruido electrónico.

A niveles de luz muy bajos, los recuentos medidos por segundo son proporcionales a la intensidad de la luz. Un aumento del tiempo de medición genera unos valores más exactos debido a la irregularidad de los impactos de los fotones (estadísticas de los fotones). El ruido fotónico (ruido de disparo) no se puede reducir por medios técnicos.



Nota

La relación señal-ruido (S/N) se puede optimizar aumentando el tiempo de integración. Aumentar el tiempo de integración multiplicándolo por 10 dará como resultado una mejora de la relación S/N de aproximadamente el triple.

4.9.2 *Atenuación del nivel de luz*

Cuando se utiliza la detección por conteo de fotones, es necesaria la atenuación óptica de los niveles de luminiscencia más altos (>10 000 000 de conteos por segundo). Si es ese el caso, habrá demasiados fotones entrando en el detector de luminiscencia a la vez, y no se podrán distinguir como pulsos de salida diferentes. Las velocidades de conteo serán incluso inferiores a los valores medidos con niveles de luz más bajos.

Por tanto, los valores >10 000 000 conteos por segundo (sin atenuación) se muestran como **INVALID** (no válidos) en la hoja de resultados.

El sistema de luminiscencia óptica del lector **Infinite** puede atenuar niveles de luz con un factor fijo de 1 (sin atenuación) o de 100 (2 OD). En consecuencia, se modificará el rango de medición que se puede aplicar con mayores niveles de luz (<1 000 000 000 de conteos por segundo).

4.10 Mediciones con inyectores

4.10.1 Cebado y lavado del lector *Infinite*



ATENCIÓN

EL PORTADOR DEL INYECTOR DEBE ESTAR EN LA POSICIÓN DE SERVICIO EN EL MOMENTO DEL LAVADO Y EL CEBADO.

¡EL CEBADO Y EL LAVADO NO SE LLEVARÁN A CABO CON EL PORTADOR DEL INYECTOR COLOCADO EN EL INSTRUMENTO!

El paso inicial de relleno del sistema inyector (cebado), así como el paso de limpieza del sistema inyector (enjuague), deben tener lugar fuera del instrumento.

Para estos procedimientos, el portador del inyector se retira del instrumento y se pone en la posición de servicio de la caja del inyector.



Botones Cebado/Lavado
para los inyectores A y B

Figura 29: Caja de inyector con inyector en **service position** (posición de servicio); se retiran los inyectores de la ranura del portador y se introducen en el soporte del sistema portador del inyector.

Para los pasos de cebado y lavado del sistema inyector se proporciona un ajuste predeterminado para la velocidad de inyección y el volumen dispensado. Si fuera necesario, se pueden ajustar los parámetros de cebado en la ventana de control de inyector del software i-control.

El volumen de cebado depende de la longitud de los tubos. Hay disponibles dos tipos de tubo de inyector: **largo**: 105 cm, y **corto**: 80 cm.

El volumen de cebado mínimo es de 700 μl para un inyector con tubo corto y de 850 μl para un inyector con tubo largo.

**ATENCIÓN**

NO TOQUE LAS AGUJAS DEL INYECTOR. SE PUEDEN DOBLAR O DESALINEAR FÁCILMENTE, LO CUAL PODRÍA ORIGINAR PROBLEMAS DE INYECCIÓN O DAÑAR EL INSTRUMENTO.

SI EL PORTADOR DEL INYECTOR NO ESTÁ CORRECTAMENTE INTRODUCIDO EN EL CORRESPONDIENTE PUERTO, EL SENSOR NO DETECTARÁ EL INYECTOR Y, POR TANTO, ESTARÁN HABILITADOS EL LAVADO Y EL CEBADO, LO CUAL PODRÍA DAÑAR EL INSTRUMENTO. ADEMÁS DE ELLO, NO SERÁ POSIBLE REALIZAR LAS ACCIONES DISPENSE (DISPENSAR) E INJECT (INYECTAR).

Cebado

Antes de poder utilizar el sistema de inyección, se necesita una etapa inicial de llenado (cebado) para eliminar todo el aire y para llenar completamente el sistema de líquido.

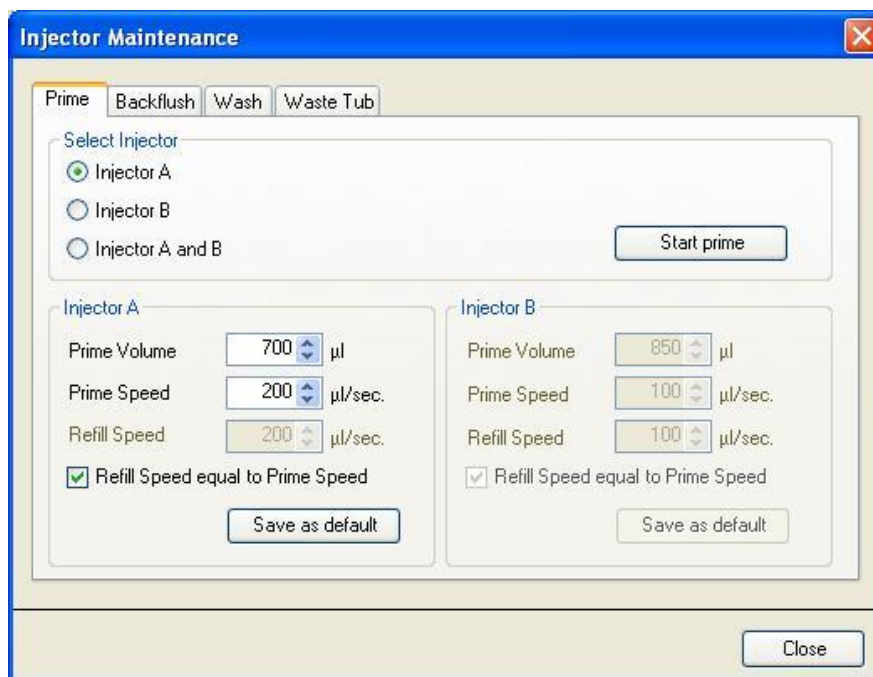
Se recomienda realizar una etapa de lavado antes del cebado.

Dicho cebado se puede llevar a cabo utilizando el software i-control o empleando los botones del hardware de la caja del inyector:

1. Llene las botellas de almacenamiento con los reactivos necesarios e introduzca el tubo o tubos de alimentación. Asegúrese de que el tubo/los tubos lleguen hasta el fondo de la botella.
2. Retire el inyector de la ranura del portador e introdúzcalo en la posición de servicio de la caja de inyector.
3. Coloque un recipiente vacío debajo del inyector.

Procedimiento de cebado (i-control):

1. Ajuste los parámetros en la **Prime tab** (pestaña de cebado) del cuadro de diálogo **Injector Maintenance** (mantenimiento del inyector) del **Settings menu** (menú de ajustes).
2. Inicie el procedimiento de cebado haciendo clic en **Start prime** (iniciar cebado) en el cuadro de diálogo de mantenimiento del inyector.
3. Compruebe visualmente que las jeringuillas no contengan burbujas de aire. Deberá eliminarse toda burbuja antes del cebado para garantizar un buen rendimiento de inyección.



4. Seleccione uno de los inyectores **Injector A** o **Injector B** o bien **Injector A and B** (ambos inyectores).
5. Seleccione el Prime Volume (volumen de cebado)
(700 - 60 000 µl – tubo corto)
(850 - 60 000 µl – tubo largo)
6. Seleccione la **Prime Speed** (velocidad de cebado)
(100 - 300 µl/seg)
7. Seleccione la **Refill Speed** (velocidad de llenado)
(100 – 300 µl/seg.) o seleccione
Refill Speed equal to Prime Speed
(velocidad de llenado igual a la velocidad de cebado).
8. Inicie el cebado haciendo clic en el botón **Start prime** (iniciar cebado).
9. Haga clic en el botón **Save as default** (guardar como valor predeterminado) para guardar los ajustes seleccionados con el correspondiente botón del hardware (A o B) en la caja de inyector. Al utilizar los botones del hardware para el cebado, se aplicarán estos ajustes.
10. Seleccione **Close** (cerrar) para salir de la ventana de diálogo

Procedimiento de cebado (botón del hardware):

También se puede realizar el cebado sin necesidad del software. Se pueden almacenar los parámetros de cebado en el inyector haciendo clic en **Save as Default** (guardar como predeterminado) en la pestaña **Prime** (cebado) del cuadro de diálogo **Injector Maintenance** (mantenimiento del inyector) en el software i-control – en el menú **Settings** (ajustes), haga clic en **Injectors...** (Inyectores...), y aparecerá el cuadro de diálogo **Injector Maintenance** (mantenimiento del inyector). Pulse el botón **Prime/Wash** (cebado/lavado) en la caja de inyector para iniciar la secuencia de cebado utilizando los parámetros predeterminados (consulte la Figura 29: Caja de **inyector con inyector en service position** (posición de servicio), página 78). Se deberá conectar el inyector **al** instrumento, y este deberá estar conectado. Inicie el procedimiento de cebado manteniendo pulsado el botón **Prime/Wash** (cebado/lavado) durante menos de 3 segundos.

Compruebe visualmente que las jeringuillas no contengan burbujas de aire. Deberá eliminarse toda burbuja antes del cebado para garantizar un buen rendimiento de inyección.

Una vez concluido correctamente el procedimiento de cebado, vuelva a introducir el inyector en el instrumento. Cierre completamente la tapa del módulo de la bomba antes de comenzar con una medición. Los inyectores estarán listos para usarse.

Al iniciar una medición con las acciones **injection** (inyección) o **dispense** (administración), se dispensan 5 µl de líquido a un recipiente desechable en el portaplacas antes de comenzar con la **injection** (inyección) o con la **dispense** (administración). Esta etapa inicial de dispensado garantiza que las condiciones de inyección/dispensado sean las mismas para todos los pocillos.



ATENCIÓN

CIERRE COMPLETAMENTE LA TAPA DEL MÓDULO DE LA BOMBA (CAJA DE INYECTOR) ANTES DE COMENZAR CON UNA MEDICIÓN.

Reflujo de reactivo

El volumen muerto del sistema de inyección (agujas del inyector, jeringuillas, válvulas y tubos) es de aproximadamente 100 µl por cada jeringuilla una vez terminado el procedimiento de reflujo. La función del reflujo es devolver el reactivo que no se haya utilizado a las botellas de reserva.

La velocidad de inyección se puede ajustar a través del software para que los reactivos se mezclen correctamente. La velocidad óptima de inyección depende de los parámetros del ensayo, como la viscosidad de los líquidos, el formato de la placa y el comportamiento de los líquidos respecto a la medición.

El reflujo de reactivo permite bombear los reactivos que se encuentran en el sistema de tubos de vuelta a las botellas de almacenamiento. Esta acción puede realizarse opcionalmente antes de lavar el sistema inyector para minimizar el volumen muerto.

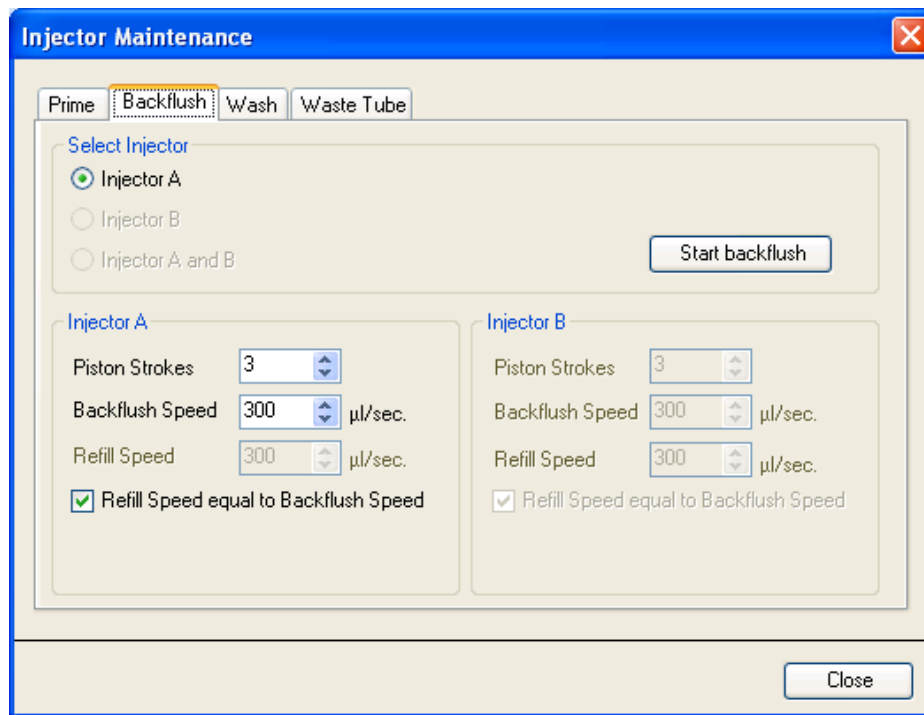
Antes de realizar el procedimiento de **Backflush** (reflujo):

Retire el portador del inyector del instrumento e introdúzcalo en la posición de servicio de la caja de inyector.

Introduzca el tubo de alimentación en la botella de almacenamiento apropiada.

Procedimiento de reflujo (i-control):

Ajuste los parámetros en la pestaña **Backflush** (reflujo) del cuadro de diálogo **Injector Maintenance** (mantenimiento del inyector) del menú **Settings** (ajustes). Inicie el procedimiento de reflujo del reactivo haciendo clic en **Start backflush** (iniciar reflujo).



1. Seleccione uno de los inyectores **Injector A** o **Injector B** o bien **Injector A and B** (ambos inyectores) – solamente están disponibles para **backflush** (reflujo) los inyectores **primed** (cebados).
2. Seleccione las **Piston Strokes** (carreras de pistón) (1 – 60; 1 carrera equivale a 1 ml).
3. Seleccione la **Backflush Speed** (velocidad de reflujo) (100 - 300 µl/seg.).
5. Seleccione la **Refill Speed** (velocidad de llenado) (100 – 300 µl/seg.) o seleccione **Refill Speed equal to Backflush Speed** (velocidad de llenado igual a la velocidad de reflujo).
5. Haga clic en **Start backflush** (iniciar reflujo) para comenzar el procedimiento de reflujo del reactivo.
6. Haga clic en **Close** (cerrar) para salir de la ventana de diálogo.



ATENCIÓN

**EL PORTADOR DEL INYECTOR DEBE ESTAR EN LA POSICIÓN DE SERVICIO PARA LA ACCIÓN BACKFLUSH (REFLUJO).
¡NO LLEVE A CABO EL REFLUJO CUANDO EL INYECTOR ESTÉ EN EL INSTRUMENTO!**

4.10.2 Lavado

Antes de apagar el instrumento, se recomienda realizar un procedimiento de lavado para limpiar el sistema inyector.

Dicho lavado se puede llevar a cabo utilizando el software i-control o empleando los botones del hardware de la caja de inyector.

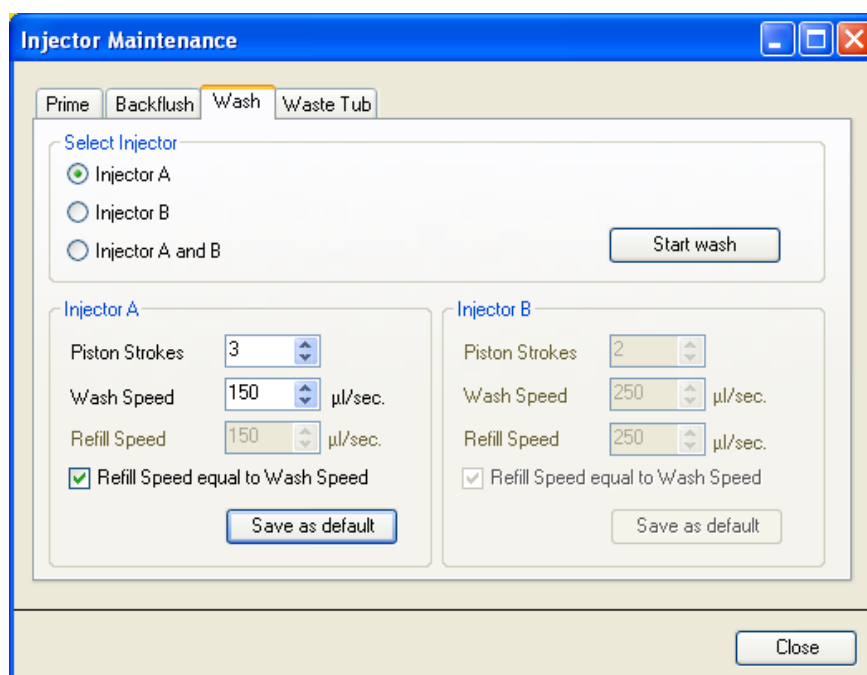
Antes de realizar el procedimiento de lavado:

1. Llene las botellas de almacenamiento con los reactivos de lavado apropiados (agua destilada, etanol al 70%, etc.) e introduzca los tubos de alimentación. Asegúrese de que los tubos lleguen hasta el fondo de la botella.
2. Retire el inyector de la ranura del portador e introdúzcalo en la posición de servicio de la caja de inyector.
3. Coloque un recipiente vacío debajo del inyector.

Procedimiento de lavado (i-control):

Ajuste los parámetros en la pestaña **Wash** (lavado) del cuadro de diálogo **Injector Maintenance** (mantenimiento del inyector) del menú **Settings** (ajustes).

1. Inicie el procedimiento de lavado haciendo clic en el botón **Start wash** (iniciar lavado).



2. Seleccione uno de los inyectores **Injector A** o **Injector B**, o bien **Injector A and B** (ambos inyectores).
3. Seleccione las **Piston Strokes** (carreras de pistón) (1 – 60; 1 carrera equivale a 1 ml)
4. Seleccione la **Wash Speed** (velocidad de lavado) (100 - 300 µl/seg).
5. Seleccione la **Refill Speed** (velocidad de llenado) (100 – 300 µl/seg.) o seleccione **Refill Speed equal to Wash Speed** (velocidad de llenado igual a la velocidad de lavado).
6. Haga clic en **Start wash** (iniciar lavado) para comenzar el procedimiento de lavado.
7. Haga clic en **Close** (cerrar) para salir de la ventana de diálogo.

Procedimiento de lavado (botones del hardware):

También se puede realizar el lavado sin necesidad del software. Se pueden almacenar los parámetros de lavado en el inyector haciendo clic en **Save as Default** (guardar como predeterminado) en la pestaña **Wash** (lavado) del cuadro de diálogo **Injector Maintenance** (mantenimiento del inyector) – en el menú **Settings** (ajustes), haga clic en **Injectors...** (Inyectores...), y aparecerá el cuadro de diálogo **Injector Maintenance** (mantenimiento del inyector) – del software i-control. Pulse el botón **Prime/Wash** (cebado/lavado) en la caja de inyector para iniciar la secuencia de lavado utilizando los parámetros predeterminados. (Consulte la Figura 29: Caja de **inyector con inyector en service position** (posición de servicio), página 78). Se deberá conectar el inyector al instrumento, y este deberá estar conectado. Inicie el procedimiento de lavado manteniendo pulsado el botón Prime/Wash (cebado/lavado) durante más de 3 segundos.



ATENCIÓN

EL PORTADOR DEL INYECTOR DEBE ESTAR EN LA POSICIÓN DE SERVICIO PARA LA ACCIÓN WASH (LAVADO).
¡NO LLEVE A CABO EL LAVADO CUANDO EL INYECTOR ESTÁ EN EL INSTRUMENTO!



ATENCIÓN

ASEGÚRESE DE REALIZAR UN PROCEDIMIENTO DE LAVADO FINAL CON AGUA DESTILADA Y VACÍE EL SISTEMA INYECTOR. PARA UNA BUENA CONSERVACIÓN Y UNA VIDA ÚTIL PROLONGADA DEL SISTEMA INYECTOR, LLÉNELO DE LÍQUIDO (AGUA) ANTES DE APAGAR EL INSTRUMENTO.



ATENCIÓN

CONSULTE EL RESPECTIVO JUEGO DE REACTIVOS PARA OBTENER ASESORAMIENTO SOBRE CÓMO ELIMINAR COMPLETAMENTE EL SUSTRATO DEL SISTEMA DE TUBOS.



ATENCIÓN

CUIDE BIEN LOS INYECTORES YA QUE, SI RESULTAN DAÑADOS, LA PRECISIÓN DEL SUMINISTRO PODRÍA VERSE AFECTADA. ESO PODRÍA DAÑAR EL INSTRUMENTO.



Nota

Las agujas de los inyectores se pueden sustituir cambiando el portador del inyector junto con los correspondientes tubos.



ATENCIÓN

EL BOTÓN/BOTONES DE LA CAJA DE INYECTOR INCLUYEN DOS FUNCIONES:

- PULSE EL BOTÓN DURANTE MENOS DE 3 SEGUNDOS PARA COMENZAR EL CEBADO.
- PULSE EL BOTÓN DURANTE MÁS DE 3 SEGUNDOS PARA COMENZAR EL LAVADO.
- LOS PARÁMETROS HAN DE SER AJUSTADOS EN EL SOFTWARE I-CONTROL.

Cuba de descarga

Al iniciar una medición con las acciones **injection** (inyección) o **dispense** (administración), se dispensan 5 μl de líquido a un recipiente desechable en el portaplasmas antes de comenzar con la **injection** (inyección) o con la **dispense** (administración).

Esta etapa inicial de administración o dispensado garantiza que las condiciones de inyección/dispensado sean las mismas para todos los pocillos. Dicha etapa especial de dispensado dependerá del modo de llenado seleccionado en el inyector o en la banda para administración (consulte el capítulo 4.10.4 Modos del inyector para obtener más detalles).

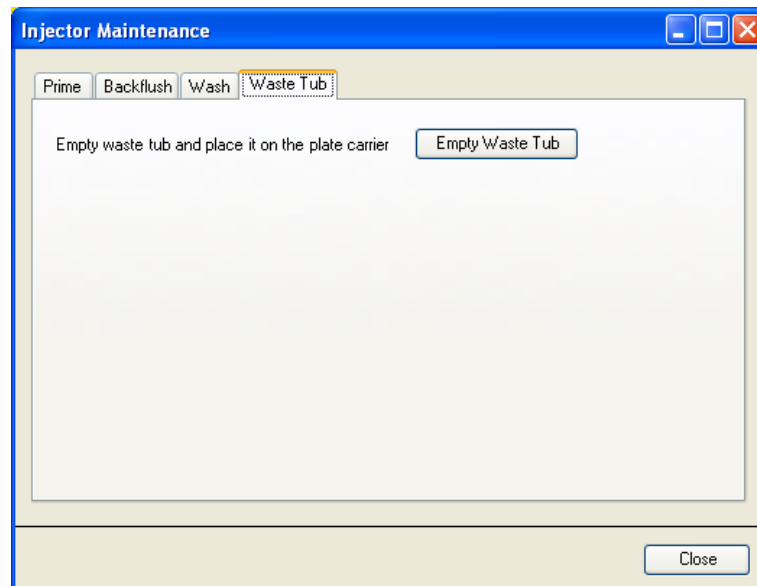
Cuando se utiliza en modo de llenado **standard** (estándar), se realiza la etapa de dispensado después de cada llenado. Cuando se utiliza **Refill for every injection** (llenado en cada inyección), la etapa de dispensado solamente se realiza una vez al inicio de la medición.

Por tanto, el contenedor de residuos desechable (cuba de descarga) se debe vaciar de vez en cuando. El volumen máximo de llenado es de 1,5 ml. Un contador interno comprueba los volúmenes de líquido dispensados; el software alerta al usuario cuando llega el momento de vaciar la cuba de descarga.



Figura 30: Cuba de descarga en portaplasmas

Procedimiento de vaciado de la cuba de descarga (i-control):



Haga clic en el botón **Empty Waste tub** (vaciado de la cuba de descarga) y el portaplacas se desplazará hacia afuera automáticamente. Retire la cuba de descarga y vacíe su contenido. Una vez vaciada, vuelva a colocar la cuba de descarga en el portaplacas. El software i-control le alertará cuando deba volver a vaciar la cuba de descarga.



ATENCIÓN

COLOQUE LA CUBA DE DESCARGA SOBRE EL TRANSPORTE DE PLACAS ANTES DE COMENZAR UNA MEDICIÓN CON LAS ACCIONES INJECTION (INYECCIÓN) Y/O DISPENSE (ADMINISTRACIÓN).



ATENCIÓN

SE RECOMIENDA VACIAR LA CUBA DE DESCARGA ANTES DE COMENZAR UNA MEDICIÓN, Y HACERLO AL MENOS UNA VEZ AL DÍA.



ADVERTENCIA

LOS MATERIALES DE DESECHO (MICROPLACA) PRODUCIDOS EN LOS PROCESOS DE USO DEL LECTOR INFINITE PODRÍAN IR ASOCIADOS A BIOCONTAMINANTES.

TRATE LAS MICROPLACAS YA USADAS, OTROS ELEMENTOS DESECHABLES Y TODAS LAS SUSTANCIAS CONSUMIDAS CONFORME A LAS DIRECTRICES DE BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO.

AVERIGÜE LOS PUNTOS DE RECOGIDA APROPIADOS Y LOS MÉTODOS DE ELIMINACIÓN DE RESIDUOS APROBADOS EN SU PAÍS, ESTADO O REGIÓN.

4.10.3 *Antes de comenzar a realizar una medición con inyectores*

Antes de comenzar con una medición asegúrese de que:

- Los tubos estén limpios. Si no es el caso, consulte el capítulo 4.10.1 Cebado y lavado del lector Infinite para conocer detalles sobre cómo limpiar el sistema inyector.
- Los tubos del inyector estén correctamente introducidos y fijados en las botellas de almacenamiento.
- El sistema inyector esté cebado. No sea posible comenzar con una medición sin cebar el sistema.

A la hora de cebar el sistema:

- Compruebe que los tubos no presenten fugas, bien de forma visual o utilizando un fluido no peligroso, antes de cebarlos con reactivos valiosos.
- Compruebe que los tubos no presenten pliegues, bien de forma visual o utilizando un fluido no peligroso, antes de cebarlos con reactivos valiosos.
- Asegúrese de que las agujas del inyector no estén torcidas.
- Si, por alguna razón, hubiera que sustituir algún tubo, una vez realizada la sustitución no olvide realizar un lavado y un cebado antes de comenzar con una medición.

4. Manejo del instrumento

4.10.4 Modos del inyector (i-control)

Existen dos modos disponibles a la hora de utilizar el inyector:

Dispense (administración): El modo administración permite dispensar líquido a los pocillos seleccionados uno a uno

Injection (inyección): Este modo se debe utilizar en combinación con una banda para medición. La inyección se realiza en modo pocillo a pocillo.

Modo de administración

Los ajustes de administración se pueden configurar a través del software:

Dispense (administración)

Select Injector (selección del inyector): Se puede seleccionar el inyector A o el inyector B.

Velocidad: Se puede seleccionar la velocidad de inyección entre 100 – 300 µl/seg. para cada inyector.

Seleccione la **Refill Speed** (velocidad de llenado) entre 100 – 300 µl/seg. o seleccione **Refill Speed equal to Dispense Speed** (velocidad de llenado igual a la velocidad de administración).

Seleccione el modo de llenado **Standard** (estándar) si se debe realizar el llenado cuando la jeringuilla está vacía (se realizan varias etapas de administración antes del llenado, que se produce cuando se han administrado aprox. 800 µl).

Seleccione **Refill for every dispense** (rellenar para cada administración) si se debe realizar un llenado por cada etapa de administración.

Uso de la banda para administración

The screenshot shows the software interface for plate administration. It is divided into three main sections:

- Plate (1):** Shows the plate definition as "[GRE96fb_chimney] - Greiner 96 Flat Black". There is a checkbox for "Plate with cover" and a "Details..." button.
- Part of Plate (2):** Displays a 96-well plate grid (rows A-H, columns 1-12). The first five wells in each row (A1-A5, B1-B5, C1-C5, D1-D5, E1-E5) are highlighted in yellow, indicating they are selected for administration. A "Details..." button is present.
- Dispense (3):** Contains settings for two injectors:
 - Select Injector:**
 - Injector A: Volume: 100 µl, Speed: 200 µl/sec. Refill Speed: 100 µl/sec. (with checkbox for "Refill Speed equal to Dispense Speed")
 - Injector B: Volume: 100 µl, Speed: 200 µl/sec. Refill Speed: 100 µl/sec. (with checkbox for "Refill Speed equal to Dispense Speed")
 - Refill mode:**
 - Standard:
 - Injector A Refill Volume: 500 µl
 - Injector B Refill Volume: 500 µl
 - Refill for every dispense

Plate (placa)	Seleccione un tipo de placa apropiado
Part of the plate (lado de la placa)	Opcional; Seleccione los pocillos a los que se va a administrar
Dispense (administración)	Ajuste los parámetros de administración. Si se han seleccionado ambos inyectores, primero se administra a todos los pocillos mediante el inyector A y, a continuación, con el inyector B. La banda para administración no requiere una banda adicional de medición.
Dispense volume (volumen de administración)	El volumen de inyección depende del tipo de microplaca. La definición de la placa incluye el llamado volumen de trabajo. Este volumen de trabajo define el volumen máximo que se administrará a la microplaca seleccionada. Por tanto, debe asegurarse en todo momento de que el archivo de definición de placa seleccionado contenga los ajustes correctos para el volumen de trabajo. El volumen de administración máximo es de 800 µl/banda para administración. Si se van a administrar volúmenes superiores a 800 µl (p.ej. en placas de 6 pocillos), se deberá utilizar más de una banda para administración.

Injection Mode (modo de inyección)

Los ajustes de la inyección se pueden configurar a través del software:

Injection (inyección)

Seleccione el inyector:

Se puede seleccionar el inyector A o el inyector B. No es posible seleccionar los dos inyectores en una banda. Si se va a realizar una medición con dos inyectores, serán necesarias dos bandas para inyector.

Velocidad: Se puede seleccionar la velocidad de inyección entre 100 – 300 µl/seg. para cada inyector.

Seleccione una **Refill Speed** (velocidad de llenado) entre 100 – 300 µl/seg. o seleccione **Refill Speed equal to Dispense Speed** (velocidad de llenado igual a la velocidad de administración).

Seleccione el modo de llenado **Standard** (estándar) si se debe realizar el llenado cuando la jeringuilla está vacía (se realizan varias etapas de administración antes del llenado que se produce cuando se han administrado aprox. 800 µl).

Seleccione **Refill for every dispense** (llenar para cada administración) si se debe realizar un llenado por cada etapa de administración.

Injection volume (volumen de inyección)

El volumen de inyección depende del tipo de microplaca. La definición de la placa incluye el llamado volumen de trabajo. Este volumen de trabajo define el volumen máximo que se administrará a la microplaca seleccionada. Por tanto, debe asegurarse en todo momento de que el archivo de definición de placa seleccionado contenga un ajuste correcto para el volumen de trabajo. El volumen de administración máximo es de 800 µl/banda para administración. Si se van a administrar volúmenes superiores a 800 µl (p.ej. en placas de 6 pocillos), se deberá utilizar más de una banda para administración.

Utilización de la banda para administración

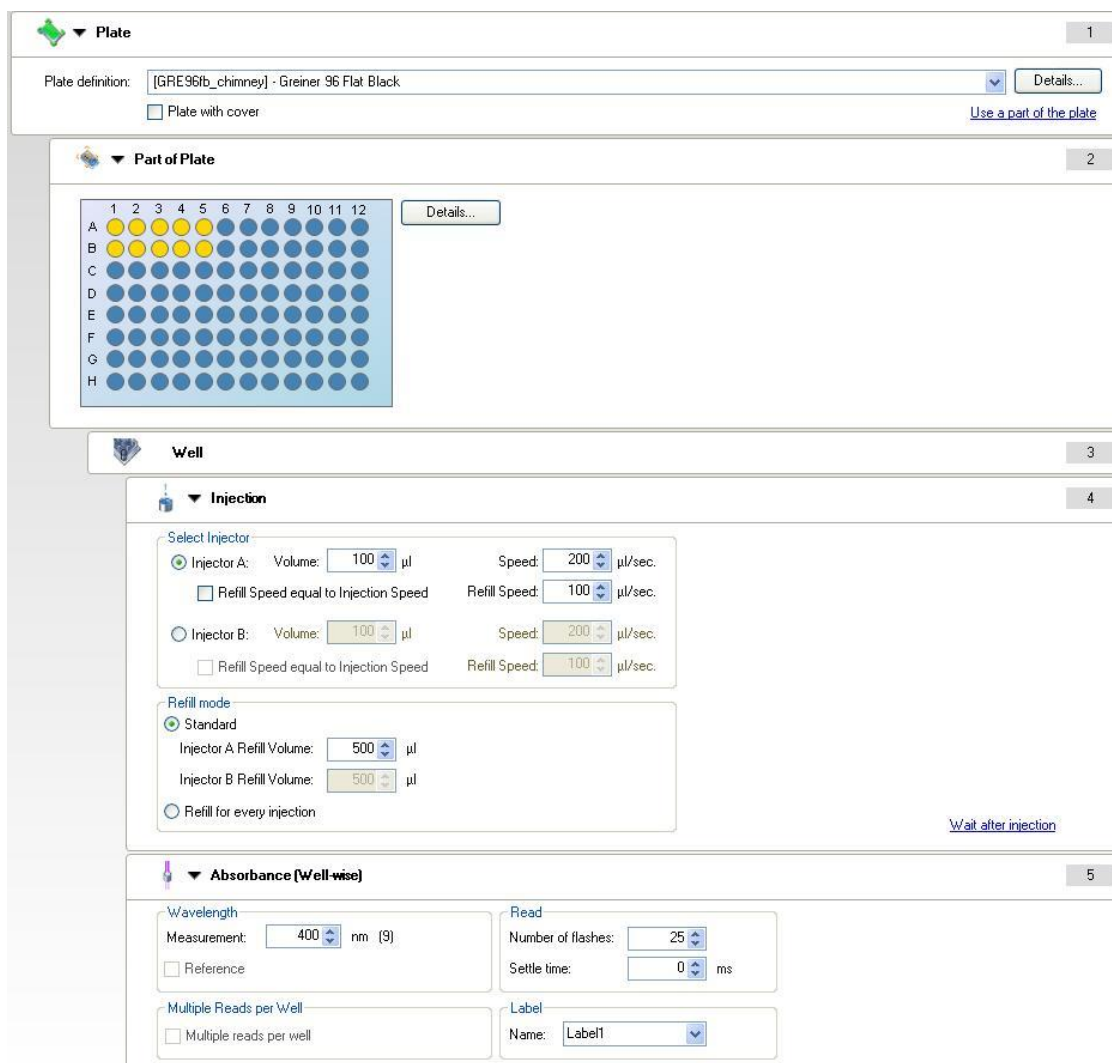



Plate (placa)	Seleccione un tipo de placa apropiado.
Part of the plate (lado de la placa)	Opcional; seleccione los pocillos a los que se va a administrar
Well (Pocillo)	Es obligatorio el uso de una banda de tipo pocillo. La inyección no es posible con una banda para pocillos . Esta banda garantiza que las siguientes bandas funcionen pocillo a pocillo.
Injection (inyección)	Ajuste los parámetros de inyección. Solamente se podrá seleccionar un inyector por banda. Si se necesitan los dos inyectores, o un inyector va a realizar dos inyecciones, se deberá introducir una banda para inyección adicional.
Measurement strip (Example Absorbance) (banda para medición – ejemplo: absorbancia)	Es obligatorio el uso de al menos una banda para medición en combinación con la banda para inyección. La posición de la banda o bandas para medición (delante o detrás de la banda para inyección) dependerá de la aplicación y, por tanto, será seleccionada por el usuario.

**Nota**

asegúrese de que el correspondiente valor del volumen de trabajo en su archivo de definición de placa sea superior al volumen utilizado para la inyección.

Banda para espera

Se puede introducir una banda con **Wait timer** (temporizador de espera) – con un tiempo de demora o de asentamiento – en el procedimiento.


▼ **Wait (Timer)**

Timer

Wait time: (hh:mm:ss)

Options

Wait for injection

Ignore wait at last kinetic cycle

**Wait time
(tiempo de espera)**

Seleccione un tiempo en hh:mm:ss entre 00:00:01 y to 23:59:59

Opciones

Si está seleccionado **Wait for injection** (esperar hasta la inyección), **el tiempo de espera incluirá el tiempo de inyección.**

Si NO está seleccionado **Wait for injection** (esperar hasta la inyección), habrá que añadir el tiempo de espera al tiempo de inyección.

4.11 Mediciones de preparaciones de blancos

El software permite lo que se denomina medición del **Blanking** (preparación de blancos). En el menú **Instrument** (instrumento), la opción **Blanking** (preparación de blancos) solamente estará disponible cuando esté disponible una casilla de medición que contenga una medición de una cubeta. Cuando esté seleccionado **Blanking** (preparación de blancos) en el menú **Instrument** (instrumento), se activará una medición de absorbancia con el puerto para cubetas de acuerdo con los parámetros (longitud de onda, número de flash, tiempo de asentamiento) de la casilla activa. Se pedirá al usuario que introduzca la cubeta del blanco (p.ej. que contenga solución búfer) y comience con la medición. Los datos de blanco se enviarán a una hoja de cálculo Excel. Los datos también se almacenan en el software y pueden aplicarse a las siguientes mediciones de cubetas realizadas con los mismos parámetros. Los datos del blanco se restan automáticamente cuando está seleccionada la casilla **Apply Blanking** (aplicar preparación de blanco) en la banda **Absorbance** (absorbancia) o **Absorbance Scan** (exploración de absorbancia).

Los datos del blanco se almacenan en el software mientras que no se realice ninguna otra medida de preparación de blancos o hasta que se cierre el software. Tenga en cuenta que se sobrescribirán los datos de preparación de blancos almacenados sin que aparezca un mensaje de advertencia si se inicia una nueva medición de preparación de blancos. Los datos de preparación de blancos almacenados también se eliminarán sin que aparezca un mensaje de advertencia al cerrar el software.



ATENCIÓN

SE SOBRESCRIBIRÁN LOS DATOS DE PREPARACIÓN DE BLANCOS SIN QUE APAREZCA UN MENSAJE DE ADVERTENCIA AL INICIAR UNA NUEVA MEDICIÓN DE PREPARACIÓN DE BLANCOS. LOS DATOS DE PREPARACIÓN DE BLANCOS TAMBIÉN SE ELIMINARÁN SIN QUE APAREZCA UN MENSAJE DE ADVERTENCIA AL CERRAR EL SOFTWARE I-CONTROL.

4.12 Mediciones en las cubetas

4.12.1 Banda para cubetas

Para llevar a cabo mediciones en las cubetas, es necesaria una **Cuvette strip** (banda para cubetas)



Figura 31: Cuvette Strip (banda para cubetas)

Para algunas aplicaciones puede ser necesario combinar una medición en microplacas con una medición en cubetas. El software i-control, por tanto, permite el uso de una banda para cubetas y una banda para placas en una misma casilla de medición. La medición en cubeta debe colocarse delante de la medición en microplaca. Para realizar una medición de microplaca exacta, la puerta de la cubeta no debe estar abierta. De lo contrario, el software no permitirá que el usuario utilice una banda para **Move cuvette OUT** (EXTRAER la cubeta) antes de realizar la medición en microplaca (consulte también el capítulo 4.12.3).

4.12.2 Movimientos de la cubeta

La cubeta se puede mover hacia adentro y hacia afuera mediante los botones **cuvette in** (cubeta dentro) y **cuvette out** (cubeta fuera) o bien seleccionando **Cuvette in/Cuvette out** en el cuadro de diálogo **Instrument/Movements** (instrumento/movimientos).



Figura 32: Botón cubeta out (fuera) y cubeta in (dentro)

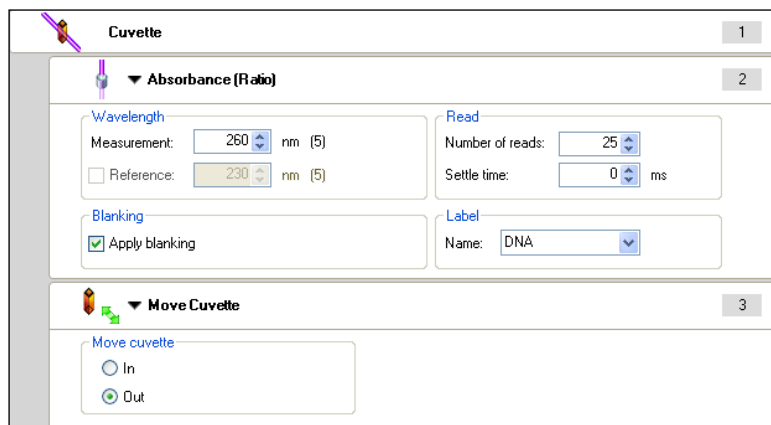
4.12.3 Ejemplos de cubetas en i-control

Ejemplo 1:

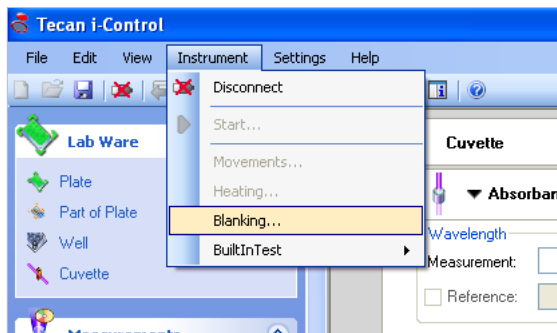
Ejemplo de cómo utilizar la medición de **Blanking** (preparación de blancos) al medir una muestra de ADN:

Prepare la cubeta con búfer de muestra

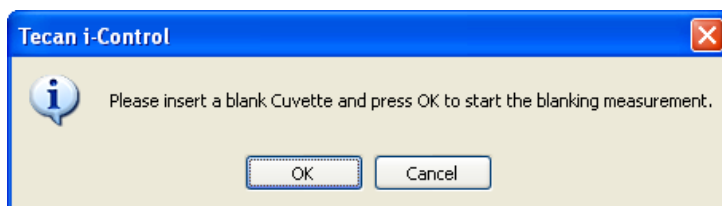
Configure la medición del ADN en el software i-control:



Seleccione **Blanking** (preparación de blancos) desde el menú **Instrument** (instrumento):

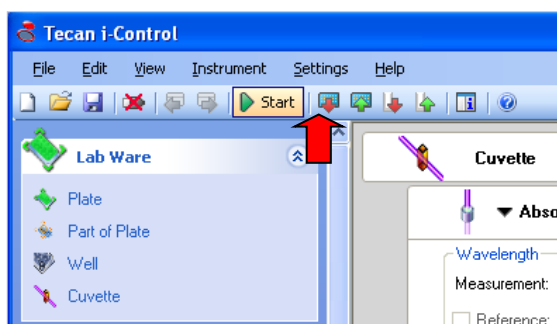


Se inicializa el instrumento y el soporte de la cubeta sale. Se pide al usuario que introduzca la cubeta con el blanco:



Introduzca la cubeta con el blanco y haga clic en **OK** para iniciar la medición del blanco. Los datos de medición del blanco se muestran en una hoja de cálculo Excel. El soporte de la cubeta sale hacia afuera.

Retire la cubeta con el blanco. Prepare una cubeta con la muestra y póngala en el soporte para cubetas. Inicie la medición haciendo clic en **Start** (inicio):

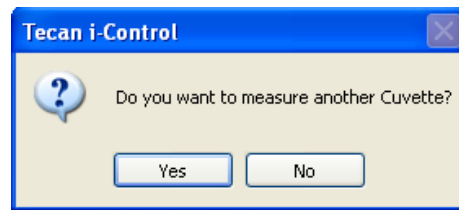


El soporte para cubetas se moverá hacia adentro y se realizará la medición. Los datos medidos (Value), así como los datos del blanco (Blank) y los datos de preparación del blanco (Diff) se muestran en una hoja de cálculo Excel:

Ejemplo de visualización de datos cuando se miden dos cubetas:

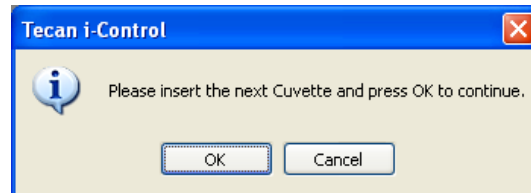
Info: Blank data from: 20.03.2006 15:34:31				
	Value	Blank	Diff	
Cuv. 1	1.032	0.054	0.978	
Cuv. 2	1.409	0.054	1.355	

Una vez finalizada la medición de la primera cubeta (Cuv: 1) se muestra el siguiente mensaje:



Haga clic en **No** para finalizar la medición.

Haga clic en **Yes** para continuar:

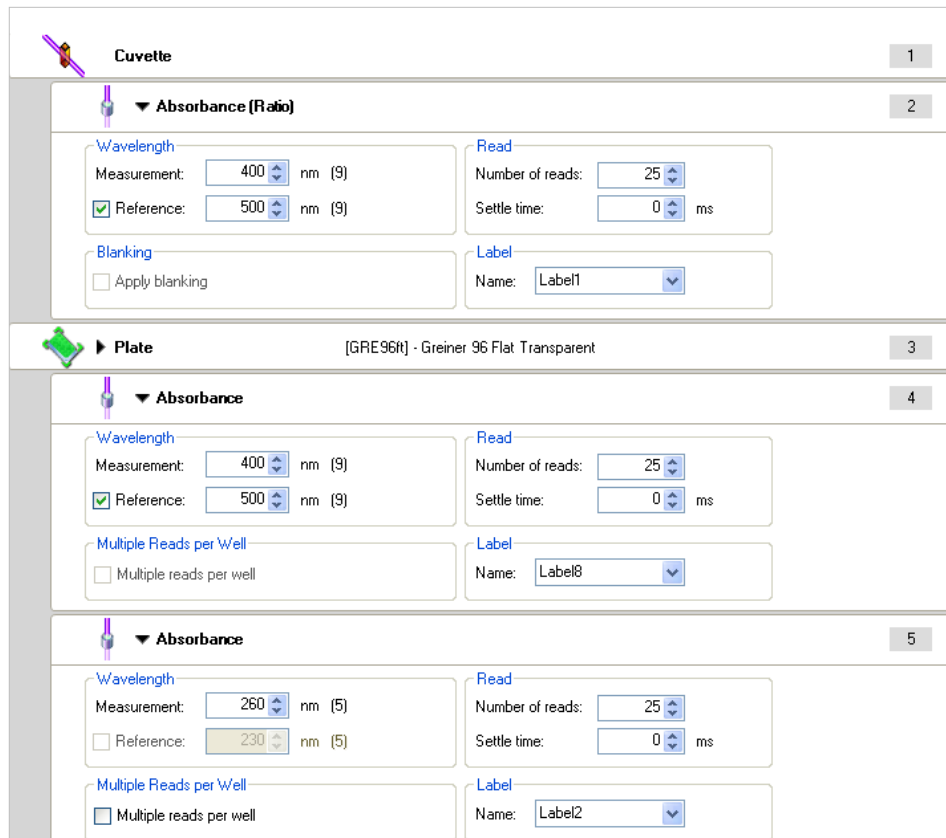


Introduzca la siguiente cubeta con la muestra y haga clic en **OK** para continuar con la medición.

Ejemplo 2:

Combinación de la medición de una microplaca y una cubeta:

Para determinadas aplicaciones puede ser necesario comparar datos medidos en una microplaca con datos de una cubeta. El siguiente ejemplo muestra cómo configurar esta medición en general:



Cuvette (cubeta)	Necesaria para mediciones de cubeta.
Absorbance strip (cuvette) (banda para absorbancia (cubeta))	Se permite el uso de hasta 4 bandas para absorbancia de longitud de onda fija. Solamente se puede seleccionar la longitud de onda de referencia cuando se utiliza una banda para absorbancia de longitud de onda fija. Apply blanking (aplicar preparación de blanco) está deshabilitado si se selecciona una longitud de onda de referencia. Seleccione los parámetros de medición apropiados (longitud de onda, número de destellos y tiempo de asentamiento)
Plate (placa)	Necesaria para mediciones de microplacas. Seleccione un tipo de placa apropiado para la medición.
Part of Plate (not shown) (lado de la placa) (no se muestra)	Opcional. Utilice la banda para part of plate (lado de la placa) si solo se va a medir un lado de la placa.

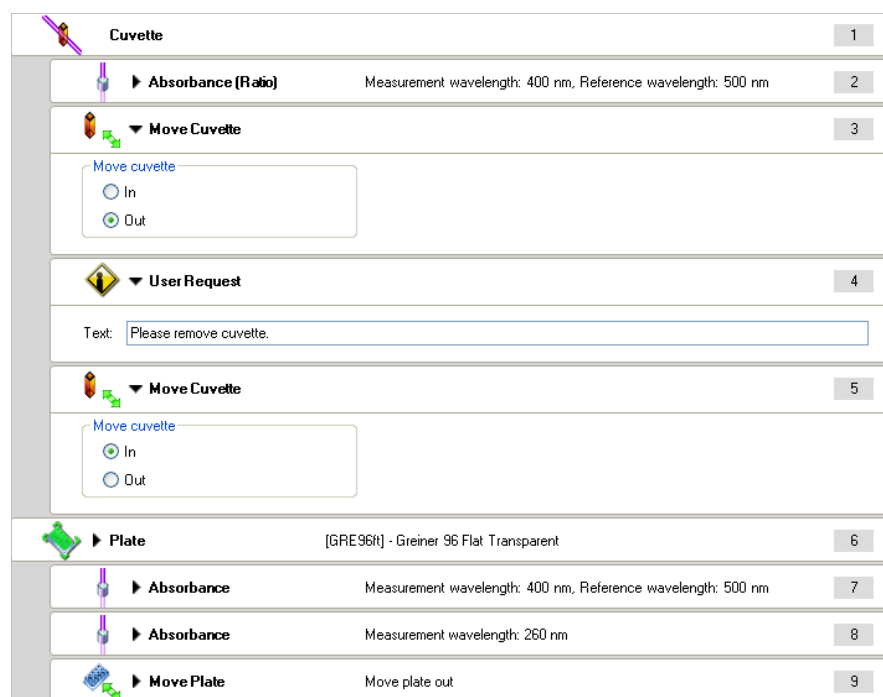
**Absorbance strip (microplate)
(banda para absorbancia
(microplaca))**

Se permite el uso de hasta 10 bandas para absorbancia de longitud de onda fija. Solamente está permitida la longitud de onda de referencia en la primera banda para absorbancia. La longitud de onda de referencia está inhabilitada para las bandas para absorbancia 2 a 10.

Seleccione los parámetros de medición apropiados (longitud de onda, número de destellos y tiempo de asentamiento) para su aplicación.

Ejemplo 3:

Uso de la banda para **Move Cuvette OUT** (mover la cubeta hacia AFUERA) cuando se mide una combinación de microplaca y cubeta:



Cuvette (cubeta)	Necesaria para la medición de cubetas
Absorbance strip (cuvette) (banda para absorbancia (cubeta))	Se permite el uso de hasta 4 bandas para absorbancia de longitud de onda fija. Solamente se puede seleccionar la longitud de onda de referencia cuando se utiliza una banda para absorbancia de longitud de onda fija. Apply blanking (aplicar preparación de blanco) está deshabilitado si se selecciona una longitud de onda de referencia. Seleccione los parámetros de medición apropiados (longitud de onda, número de destellos y tiempo de asentamiento)
Move Cuvette (Out) (mover cubeta – hacia afuera)	El soporte de la cubeta se mueve out (hacia afuera).
User Request (petición del usuario)	Una petición del usuario interrumpirá la medición, pudiendo retirar la cubeta del puerto para cubetas. Una vez confirmada la petición, continuará la medición.
Move Cuvette (In) (mover cubeta – hacia adentro)	El puerto para cubetas se desplaza hacia el interior.

<p>Plate (placa)</p>	<p>Necesaria para mediciones de microplacas. Seleccione un tipo de placa apropiado para la medición.</p>
<p>Part of Plate (not shown) (lado de la placa) (no se muestra)</p>	<p>Opcional. Utilice la banda para part of plate (lado de la placa) si solo se va a medir un lado de la placa.</p>
<p>Absorbance strip (microplate) (banda para absorbancia (microplaca))</p>	<p>Se permite el uso de hasta 10 bandas para absorbancia de longitud de onda fija. Solamente está permitida la longitud de onda de referencia en la primera banda para absorbancia. La longitud de onda de referencia está inhabilitada para las bandas para absorbancia 2 a 10. Seleccione los parámetros de medición apropiados (longitud de onda, número de destellos y tiempo de asentamiento) para su aplicación.</p>
<p>Move Plate (mover placa)</p>	<p>Opcional. Para sacar automáticamente la microplaca del instrumento al terminar la medición, seleccione Move plate OUT (mover placa hacia afuera).</p>

4.13 Ejemplos en i-control

Ejemplo 1: Ensayo Dual-Luciferase® (Promega Corp.)

Para obtener detalles sobre el ensayo, consulte la página 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 (placa)	Seleccione un tipo de placa apropiado. Se recomienda el uso de microplacas blancas para mediciones de luminiscencia. Para este ejemplo se ha seleccionado una placa blanca de 96 pocillos.
Part of the plate (lado de la placa)	(No se muestra); se puede seleccionar opcionalmente si solamente un lado de la placa debe ser procesado.
Well (Pocillo)	Obligatorio para mediciones con injection (inyección)
Injection (1) (inyección (1))	El inyector A inyecta 100 µl con una velocidad de 200 µl/seg., modo llenado: standard (estándar)
Wait (Timer) (espera (temporizador))	Tiempo de espera de 2 s
Luminescence (1) (luminiscencia (1))	Medición de luminiscencia con un tiempo de integración de 10 s, atenuación: none (ninguna)
Injection (2) (inyección (1))	El inyector B inyecta 100 µl con una velocidad de 200 µl/seg., modo llenado standard (estándar)
Wait (Timer) (espera (temporizador))	Tiempo de espera de 2 s
Luminescence (2) (luminiscencia (1))	Medición de luminiscencia con un tiempo de integración de 10 s, atenuación: none (ninguna)
Move Plate (mover placa)	La placa se mueve hacia afuera una vez terminados todos los pocillos



ATENCIÓN

ENCIENDA EL INSTRUMENTO AL MENOS 15 MINUTOS ANTES DE EMPEZAR A HACER UNA MEDIDA DE LUMINISCENCIA. ALGUNOS COMPONENTES DEBEN CALENTARSE PARA GARANTIZAR UNAS CONDICIONES ESTABLES PARA LA MEDICIÓN.

**Ejemplo 2: Sistema de ensayos de ATP Enliten®
Kit para la detección de luminiscencia para ATP (Promega Corp.)**

Para obtener detalles sobre el ensayo, consulte la página www.promega.com.

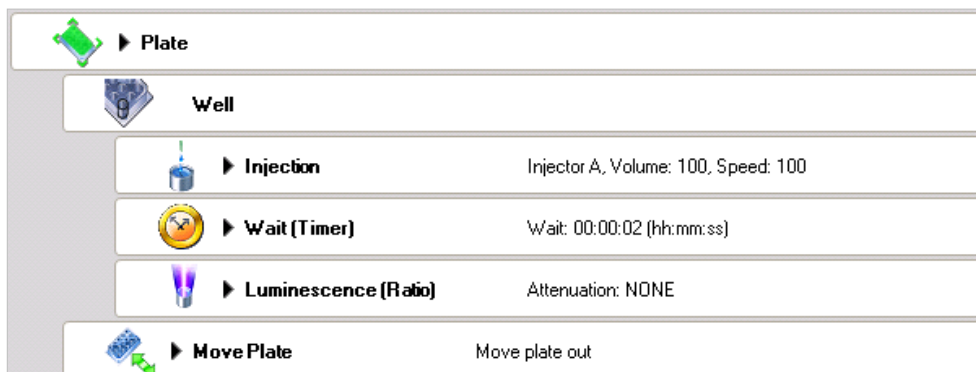


Plate (placa)	Seleccione un tipo de placa apropiado. Se recomienda el uso de microplacas blancas para mediciones de luminiscencia. Para este ejemplo se ha seleccionado una placa blanca de 96 pocillos.
Part of the plate (lado de la placa)	(No se muestra); se puede seleccionar opcionalmente si solamente un lado de la placa debe ser procesado
Well (Pocillo)	Obligatorio para mediciones con injection (inyección)
Injection (inyección)	El inyector A inyecta 100 µl con una velocidad de 100 µl/seg., modo llenado: standard (estándar)
Wait (Timer) (espera (temporizador))	Tiempo de espera de 2 s
Luminescence (luminiscencia)	Medición de luminiscencia con un tiempo de integración de 10 s, atenuación: none (ninguna)
Move Plate (mover placa)	La placa se mueve una vez terminados todos los pocillos.



ATENCIÓN

ENCIENDA EL INSTRUMENTO AL MENOS 15 MINUTOS ANTES DE EMPEZAR A HACER UNA MEDIDA DE LUMINISCENCIA. ALGUNOS COMPONENTES DEBEN CALENTARSE PARA GARANTIZAR UNAS CONDICIONES ESTABLES PARA LA MEDICIÓN.

Ejemplo 3: Medición de sondas sensibles al Ca²⁺ – Fura-2









 ▼ Plate	1
Plate definition: [GRE96fb] - Greiner 96 Flat Black	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 (placa)	Seleccione un tipo de placa apropiado. Se recomienda el uso de microplacas negras para mediciones de fluorescencia. Para este ejemplo se ha seleccionado una placa negra de 96 pocillos.
Part of the plate (lado de la placa)	(No se muestra), se puede seleccionar opcionalmente si solamente un lado de la placa debe ser procesado
Well (Pocillo)	Obligatorio para mediciones con injection (inyección)
Kinetic Cycle (ciclo cinético)	Seleccione el número de ciclos necesarios
Kinetic condition (estado cinético)	Esta banda permite que se realicen acciones una vez de forma cinética con un ciclo determinado. La banda para inyección prevista solamente se procesa una vez durante el ciclo seleccionado.
Injection (inyección)	El inyector A inyecta 20 µl a una velocidad de 200 µl/seg., modo llenado: no seleccionable; la inyección se realiza con el ciclo 5 (definido según la banda para estado cinético)
Fluorescence Intensity (1) (intensidad de la fluorescencia (1))	Seleccione los parámetros adecuados para la primera etiqueta: Longitud de onda de excitación: 380 nm, longitud de onda de emisión: 510 nm; número de destellos: 25; tiempo de integración: 40; ganancia: manual
Fluorescence Intensity (2) (intensidad de la fluorescencia (2))	Seleccione los parámetros adecuados para la segunda etiqueta: Longitud de onda de excitación: 340 nm, longitud de onda de emisión: 510 nm; número de destellos: 25; tiempo de integración: 40; ganancia: manual
Move Plate (mover placa)	La placa se mueve hacia afuera una vez terminados todos los pocillos

Ejemplo 4: Medición de sondas sensibles al 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 (placa)	Seleccione un tipo de placa apropiado. Se recomienda el uso de microplacas negras para mediciones de fluorescencia. Para este ejemplo se ha seleccionado una placa negra de 96 pocillos.
Part of the plate (lado de la placa)	(No se muestra); se puede seleccionar opcionalmente si solamente un lado de la placa debe ser procesado
Well (Pocillo)	Obligatorio para mediciones con injection (inyección)
Kinetic Cycle (ciclo cinético)	Seleccione el número de ciclos necesarios
Kinetic condition (estado cinético)	Esta banda permite que se realicen acciones una vez de forma cinética con un ciclo determinado. La banda para inyección prevista solamente se procesa una vez durante el ciclo seleccionado.
Injection (inyección)	El inyector A inyecta 20 µl a una velocidad de 200 µl/seg., modo llenado: no seleccionable; la inyección se realiza con el ciclo 5 (definido según la banda para estado cinético)
Fluorescence Intensity (1) (intensidad de la fluorescencia (1))	Seleccione los parámetros adecuados para la primera etiqueta: Longitud de onda de excitación: 340 nm, longitud de onda de emisión: 410 nm; número de destellos: 25; tiempo de integración: 40; ganancia: manual
Fluorescence Intensity (2) (intensidad de la fluorescencia (2))	Seleccione los parámetros adecuados para la segunda etiqueta: Longitud de onda de excitación: 340 nm, longitud de onda de emisión: 480 nm; número de destellos: 25; tiempo de integración: 40; ganancia: manual
Move Plate (mover placa)	La placa se mueve una vez terminados todos los pocillos.

4.14 Finalización de una sesión de medición

4.14.1 Desconexión del instrumento

Al desconectar el instrumento, la comunicación entre este y el ordenador se pierde.



Nota

Retire la microplaca y/o la cubeta antes de desconectar el instrumento del ordenador.

4.14.2 Apagado del instrumento

Al apagarlo, la actividad del instrumento se detendrá inmediatamente. Normalmente, antes de apagar el instrumento se debe desconectar (en el software). En el poco probable caso de que se produzca un error en el hardware, un apagado inmediato del instrumento reducirá el riesgo de posibles daños.

5. Características del instrumento

5.1 Introducción



Nota

Todas las especificaciones están sujetas a cambios sin notificación previa.

Los siguientes tipos de instrumento se suministran con el lector Infinite completamente equipado:

Tipo de medición	Descripción
Intensidad de fluorescencia parte superior/inferior	Consulte 5.3 Intensidad de fluorescencia y fluorescencia resuelta en el tiempo (TRF)
Fluorescencia resuelta en el tiempo	Consulte 5.3 Intensidad de fluorescencia y fluorescencia resuelta en el tiempo (TRF)
Polarización de fluorescencia	Consulte 5.4 Polarización de fluorescencia (FP) - solamente en el Infinite F Plex
Absorbancia	Consulte 5.5 Absorbancia
Luminiscencia tipo glow	Consulte 5.6 Luminiscencia tipo glow
Luminiscencia de dos colores	Consulte 5.8 Luminiscencia de dos colores (p.ej. BRET)
Luminiscencia tipo flash	Consulte 5.7 Luminiscencia tipo flash

Todas las microplacas estándar entre 6 y 384 pocillos de conformidad con las siguientes normas se pueden medir con cualquiera de los tipos de medición indicados:

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

El instrumento puede realizar mediciones cinéticas.

La lectura puede estar restringida a una parte de la microplaca.

5.2 Especificaciones del instrumento

La siguiente tabla indica las especificaciones técnicas del instrumento:

Parámetros	Características
Generales	
Medición	Controlada por software
Interfaz	USB
Manejo del filtro:	
Configuraciones del Infinite F	Cambio exterior del filtro
Configuraciones del Infinite M	Selección de longitudes de onda en función del monocromador – no se necesitan filtros
Microplacas a medir	Placas de 6 a 384 pocillos (formatos SBS estándar)
Definición de la placa	A través del software de exploración
Control de temperatura	Desde 5 °C sobre la temperatura ambiente hasta 42 °C
Agitación de placas	Agitación lineal y orbital, amplitud seleccionable entre 1 y 6 mm a intervalos de 0,5 mm
Fuente de luz	Lámpara de flash de xenón de alta energía, tiempo de vida: 10 ⁸ destellos
Óptica	Lentes de sílice fundida
Detectores:	
Fluorescencia	PMT con espectro ampliado: PMT sensible a la luz roja
Luminescence (luminiscencia)	Tubo fotomultiplicador con bajo conteo de oscuridad Electrónica para el conteo de fotones
Absorbancia	Fotodiodo de silicio
Alimentación eléctrica	Detección automática: 100 – 120 V/220 – 240 V, 50-60 Hz
Consumo eléctrico	150 VA

Parámetros	Características	
Físicos		
Dimensiones externas:		
Instrumento básico	Anchura:	425 mm 16,73 pulgadas
	Altura:	253 mm 9,96 pulgadas
	Profundidad:	457 mm 17,99 pulgadas
Módulo de bombeo	Anchura:	250 mm 9,84 pulgadas
	Altura:	155 mm 6,10 pulgadas
	Profundidad:	156 mm 6,14 pulgadas
Peso:		
Configuraciones del Infinite F	14,0 kg	
Configuraciones del Infinite M	15,8 kg	
Módulo de bombeo	3,4 kg	
Medioambientales		
Temperatura ambiente:		
En funcionamiento	De +15 °C a +30 °C	(De +59 °F a +86 °F)
Fuera de funcionamiento	De -20 °C a +60 °C	(De -4 °F a +140 °F)
Humedad relativa:		
En funcionamiento	< 80 % sin condensación	
Categoría de sobretensión	II	
Uso	Instrumento general de laboratorio	
Nivel de ruido	< 60 dBA	
Grado de polución	2	
Método de eliminación	Residuos electrónicos (residuos infecciosos)	

5.3 Intensidad de fluorescencia y fluorescencia resuelta en el tiempo (TRF)

Parámetros	Características
Rango de longitudes de onda - configuraciones del Infinite M:	Excitación: 230 - 850 nm Emisión: 280 - 850 nm
	seleccionable en tramos de 1 nm
Rango de longitudes de onda - configuraciones del Infinite F:	Excitación y emisión: 230 - 850 nm
Filtro estándar:	No aplicable – los instrumentos están equipados con filtros definidos por el usuario

Ajustes de ganancia	Valores	Rango de medición
Manual	1 - 255	0 - 60 000 RFU
Óptimo	Automático	0 - 60 000 RFU
Calculado desde pocillo	Automático	0 - 60 000 RFU

Parámetros de TRF	Características
Tiempo de integración	10 - 2000 μ s
Retardo	0 - 2000 μ s

5.3.1 Definición del límite de detección

El límite de detección es la concentración de fluoróforo a la que la señal sin ruido de fondo es igual a 3 veces la desviación estándar del ruido de fondo.

Cuando se selecciona 1 flash por pocillo, el portaplacas no se detiene en la posición de medición. Utilizando más destellos por pocillo se puede mejorar el límite de detección, si bien el tiempo total de medición será mayor.

5.3.2 Fluoresceína (Intensidad de fluorescencia) parte superior

Tipo de placa (número de pocillos)	96
Volumen administrado [μ l]	200
Destellos (lecturas) por pocillo	25
Límite de detección: de la fluoresceína [pM]	< 20 pM
Uniformidad fluoresceína 25 nM	< 3 % CV
Reproducibilidad fluoresceína 25 nM	< 2 %

5.3.3 Fluoresceína (intensidad de fluorescencia) parte inferior

Tipo de placa (número de pocillos)	96
Volumen administrado [μ l]	200
Destellos (lecturas) por pocillo	25
Límite de detección de la fluoresceína [pM]	100 pM
Uniformidad fluoresceína 25 nM	< 3 % CV
Reproducibilidad fluoresceína 25 nM	< 2 %

5.3.4 Europio (fluorescencia resuelta en el tiempo)

Tipo de placa (número de pocillos)	96
Volumen administrado [μ l]	200
Destellos (lecturas) por pocillo	25
Límite de detección del europio (Configuraciones del Infinite F)	< 150 fM
Límite de detección del europio (Configuraciones del Infinite M)	< 5 pM (valor típico)

5.4 Polarización de fluorescencia (FP) - solamente en el Infinite F Plex



Nota

*La opción **Fluorescence Polarization** (polarización de fluorescencia) solo está disponible para el Infinite F Plex. Este módulo no se puede instalar en otras configuraciones Infinite.*

Parámetros	Características
Rango de longitudes de onda	Excitación: 300 – 850 nm
	Emisión: 330 – 850 nm
Filtro estándar	Configuración de la placa de filtros predeterminada: Exc 485 (20) nm Posición en la placa de filtros de Exc: Exc1: 485 (20) - paralelo Exc2: 485 (20) - perpendicular Em 535 (25) nm Posición en la placa de filtros de Em: Em1: 535 (25) - paralelo Em2: 535 (25) - paralelo

Ajustes de ganancia	Valores	Rango de medición
Manual	1 - 255	0 - 60 000 RFU
Óptimo	Automático	0 - 60 000 RFU
Calculado desde pocillo	Automático	0 - 60 000 RFU

Parámetros de FP	Características
Tiempo de integración	20 - 2000 μ s
Retardo	0 - 2000 μ s
Precisión de la FP (solo para configuraciones del Infinite F)	< 5 mP fluoresceína 1nM

5.5 Absorbancia

Parámetros	Tipo de instrumento	Características
Rango de longitudes de onda	Configuraciones del Infinite F	230 – 1000 nm
	Configuraciones del Infinite M	230 – 1000 nm no se necesita filtro, seleccionable en pasos de 1 nm
Rango de medición	Ambos modelos	0 – 4 OD

Las siguientes especificaciones son válidas para el rango de longitudes de onda entre 300 y 700 nm para configuraciones de modelos Infinite.

Tipo de placa (número de pocillos)	96
Exactitud 0 – 2 OD	$< \pm (1 \% + 10 \text{ mOD})$
Exactitud 2 – 3 OD	$< \pm 2,5 \%$
Horizontalidad de la línea de base	$\pm 10 \text{ mOD (1 sigma)}$
Configuraciones del Infinite M	
Exactitud de la longitud de onda	$\leq \pm 1,5 \text{ nm } \lambda > 315 \text{ nm};$ $\leq \pm 0,8 \text{ nm } \lambda \leq 315 \text{ nm}$
Configuraciones del Infinite F	
Exactitud de la longitud de onda	Depende de los filtros usados

Las especificaciones son válidas para mediciones realizadas con 25 destellos (lecturas) por pocillo.

5.6 Luminiscencia tipo glow



ATENCIÓN

ENCIENDA EL INSTRUMENTO AL MENOS 15 MINUTOS ANTES DE EMPEZAR A HACER UNA MEDIDA DE LUMINISCENCIA. ALGUNOS COMPONENTES DEBEN CALENTARSE PARA GARANTIZAR UNAS CONDICIONES ESTABLES PARA LA MEDICIÓN.

La detección de luminiscencia utiliza la técnica de conteo de fotones.

Parámetros	Características
Rango de longitudes de onda	380 – 600 nm
Rango dinámico lineal	6 órdenes de magnitud
Tiempo de integración/pocillo	100 – 20 000 ms
% diafonía (placa negra)	< 0,01 %
Rango de medición	> 6 órdenes de magnitud 8 órdenes de magnitud (rango dinámico ampliado)
Atenuación de la luz	100 (filtro de atenuación OD2), 1 (sin atenuación)

5.6.1 Luminiscencia glow del ATP

Tipo de placa (número de pocillos)	96
Volumen total administrado [μl]	200
Tiempo de integración/pocillo [ms]	1000
Límite de detección del ATP	3 fmol/pocillo



ATENCIÓN

LAS ESPECIFICACIONES SOLAMENTE SERÁN VÁLIDAS CUANDO EL INSTRUMENTO ESTÉ UBICADO EN UN LUGAR EN EL QUE LA ILUMINACIÓN SEA < 500 LUX.

5.7 Luminiscencia tipo flash



ATENCIÓN

ENCIENDA EL INSTRUMENTO AL MENOS 15 MINUTOS ANTES DE EMPEZAR A HACER UNA MEDIDA DE LUMINISCENCIA. ALGUNOS COMPONENTES DEBEN CALENTARSE PARA GARANTIZAR UNAS CONDICIONES ESTABLES PARA LA MEDICIÓN.

La detección de luminiscencia utiliza la técnica de conteo de fotones.

Parámetros	Características
Rango de longitudes de onda	380 – 600 nm
Rango de medición	> 6 órdenes de magnitud 8 órdenes de magnitud (rango dinámico ampliado)
Tiempo de integración/pocillo	100 – 20 000 ms
% diafonía (placa negra)	< 0,01 %
Atenuación de la luz	100 (filtro de atenuación OD2), 1 (sin atenuación)
Límite de detección del ATP	< 80 amol/pocillo



ATENCIÓN

LAS ESPECIFICACIONES SOLAMENTE SERÁN VÁLIDAS CUANDO EL INSTRUMENTO ESTÉ UBICADO EN UN LUGAR EN EL QUE LA ILUMINACIÓN SEA < 500 LUX.

5.8 Luminiscencia de dos colores (p.ej. BRET)



ATENCIÓN

ENCIENDA EL INSTRUMENTO AL MENOS 15 MINUTOS ANTES DE EMPEZAR A HACER UNA MEDIDA DE LUMINISCENCIA. ALGUNOS COMPONENTES DEBEN CALENTARSE PARA GARANTIZAR UNAS CONDICIONES ESTABLES PARA LA MEDICIÓN.

Parámetros	Características
Longitud de onda incorporada:	Consulte 2.5.4 Sistema de absorbancia (configuraciones del Infinite F)
Tiempo de integración:	100 - 20 000 ms. Posibilidad de diferentes tiempos de integración para cada longitud de onda.
Tipo de placa:	Microplacas con 96 y 384 pocillos
Rango dinámico	6 décadas

5.9 Mediciones «sobre la marcha»

Las mediciones **On the Fly** (sobre la marcha) son las más rápidas que se pueden realizar utilizando el lector Infinite. Estas mediciones se realizan utilizando solamente un flash (número de destellos).

Placas de 96 pocillos (FI, TRF, absorbancia) Tiempo de medición: < 20 s

Placas de 384 pocillos (FI, TRF, absorbancia) Tiempo de medición: < 30 s
(Movimiento de entrada/salida de la placa no incluido).

5.10 Características de las cubetas (solamente para configuraciones del Infinite M)



Nota

La opción *Cuvette* (cubeta) solo está disponible para la configuración del Infinite M. Este módulo no se puede instalar en una configuración del Infinite F.

La opción cubeta permite realizar una medición de la absorbancia con una longitud de onda fija y en modo exploración.

Parámetros	Características
Rango de longitudes de onda	230 - 1000 nm (no se necesita filtro, seleccionable en pasos de 1 nm)
Rango de medición	0 – 4 OD

5.10.1 Especificaciones de las cubetas

Las siguientes especificaciones son válidas para el rango de longitudes de onda entre 300 y 700 nm, número de destellos 25:

Cuvette (cubeta)	Hellma 110-QS, 10 mm
Exactitud 0 – 2 OD	< ± (1 % + 18 mOD)
Exactitud 2 – 3 OD	< ± 2,5 %
Reproducibilidad 0 – 2 OD	< ± (1 % + 10 mOD)
Reproducibilidad 2 – 3 OD	< ± 2,5 %
Linealidad 0 – 2 OD	$R^2 > 0,998$
Horizontalidad de la línea de base	± 10 mOD (1 sigma)



ATENCIÓN

EL PUERTO PARA CUBETAS DE UNA CONFIGURACIÓN DEL INFINITE M NO SE PUEDE UTILIZAR PARA CUBETAS CON UNA VENTANA DE MEDIDA < 2 MM (DE DIÁMETRO) Y UNA ALTURA DEL CENTRO POR DEBAJO DE 15 MM.

5.11 Especificaciones del inyector

Parámetros	Características
Precisión	< 10% para un volumen de inyección de 10 µl
	< 2% para un volumen de inyección de 100 µl
	< 0,7% para un volumen de inyección de 450 µl
Precisión	< 10% para un volumen de inyección de 10 µl
	< 2% para un volumen de inyección de 100 µl
	< 0,7% para un volumen de inyección de 450 µl

5.11.1 Compatibilidad de los reactivos en el inyector

El sistema inyector de las configuraciones del Infinite F y del Infinite M consta de los siguientes materiales:

- Teflón (PTFE): tubo, obturador de válvula, junta
- Kelf: cuerpo de válvula
- SC05: agujas del inyector

Compruebe en la lista siguiente la compatibilidad de reactivos. La especificación **A** indica buena compatibilidad con el sistema de inyector. No se deben usar productos químicos con una especificación **D** con los inyectores Infinite. Podrían dañar gravemente el sistema inyector.

Productos químicos con especificación A	Productos químicos con especificación D
Ácido acético < 60%	Butilamina
Acetonitrilo	Tetracloruro de carbono (seco)
Cloroformo	Éter dietílico
Dimetil formamida	Etanolamina
Etanol	Etilendiamina
Hexano	Furfural
Metanol (alcohol metílico)	Ácido fluorhídrico
Ácido sulfúrico diluido (concentración ≤ 1 N)	Monoetanolamina
Tetrahidrofurano	Hidróxido potásico (potasa cáustica)
Agua, desionizada	Hipoclorito potásico
Agua, destilada	Hidróxido sódico
Agua dulce	Hipoclorito sódico
	Ácido sulfúrico concentrado

**ATENCIÓN**

LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTA TABLA HA SIDO PROPORCIONADA A TECAN AUSTRIA POR PARTE DE OTRAS FUENTES REPUTADAS, Y SE DEBE UTILIZAR ÚNICAMENTE COMO ORIENTACIÓN A LA HORA DE SELECCIONAR EQUIPOS, DE MANERA QUE SEAN QUÍMICAMENTE COMPATIBLES. ANTES DE INSTALARLO DE FORMA PERMANENTE, REALICE COMPROBACIONES EN EL EQUIPO UTILIZANDO LOS PRODUCTOS QUÍMICOS Y APLICANDO LAS CONDICIONES ESPECÍFICAS DE SU APLICACIÓN.

**ADVERTENCIA**

LAS VARIACIONES EN EL COMPORTAMIENTO QUÍMICO DURANTE LA MANIPULACIÓN DEBIDAS A FACTORES COMO LA TEMPERATURA, LA PRESIÓN Y LA CONCENTRACIÓN PUEDEN HACER QUE FALLE EL EQUIPO, AUNQUE HAYA SUPERADO UNA PRUEBA INICIAL. PODRÍAN PRODUCIRSE LESIONES GRAVES. CUANDO MANIPULE PRODUCTOS QUÍMICOS, USE PROTECTORES ADECUADOS Y/O PROTECCIÓN PERSONAL.

5.12 Accesorios para la medición

5.12.1 Filtros recomendados (solo para configuraciones del Infinite F)

Pida a su distribuidor local de Tecan que le recomiende un juego de filtros adecuado. Unos filtros diseñados para un tipo de instrumento diferente podrían no dar el rendimiento necesario con las configuraciones del Infinite F.



Nota

Si el máximo de excitación y emisión de una especie fluorescente están muy cercanos entre sí, no deberán transformarse directamente en longitudes de onda centrales para los filtros de fluorescencia.

Para lograr un ruido de fondo razonable, normalmente hay que separar, por un lado, el umbral superior de las longitudes de onda de excitación; y el umbral inferior de la longitud de onda de emisión por el otro. Este compromiso dependerá de la capacidad de obstrucción de los filtros. Para muchas moléculas fluorescentes, la señal puede mejorarse separando el ancho de banda del filtro de la otra longitud de onda central.

5.12.2 Tipos de microplacas recomendados



ATENCIÓN

PARA EVITAR DAÑOS EN EL INSTRUMENTO Y DERRAMES DE LA MUESTRA, ASEGÚRESE DE QUE EL TIPO DE MICROPLACA QUE SE VA A UTILIZAR PARA LA MEDICIÓN CORRESPONDA AL ARCHIVO DE DEFINICIÓN DE PLACA (PDFX) SELECCIONADO.

En general, se recomienda el uso de microplacas negras para sensibilidad de fluorescencia elevada. Para bajas concentraciones de etiquetas de TRF, las microplacas blancas parecen tener un rendimiento superior. Puede comprobar si las placas blancas tienen un rendimiento superior con longitudes de onda UV.

No recomendamos el uso de volúmenes inferiores a un tercio del volumen máximo. Si se utilizan volúmenes más bajos, compruebe que haya un tipo de placa adecuado disponible.

Para garantizar el óptimo rendimiento de las lecturas de fluorescencia en la parte inferior, recomendamos el uso de placas negras con fondo transparente.

Se pueden medir todas las microplacas estándar entre 6 y 384 pocillos (altura máxima de placa 23 mm, incluyendo la tapa) que cumplan con las siguientes normas:

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

Al instalar el software operativo (i-control o Magellan), también se instalan archivos de definición de placas predefinidas. Consulte la siguiente lista para conocer los respectivos números de pedido de las microplacas. Realice el pedido de microplacas a su proveedor local de microplacas.

Fabricante / Nombre del pdfx	N.º de cat.		N.º de plano:
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	781 079 781 086 781 077	781 076 781 094 781 095	AC-0205
GRE384ft	781 061 781 101 781 162 781 185	781 186 781 165 781 182	AC-0205
GRE384fw	781 073 781 080 781 074	781 075 781 097 781 096	AC-0205
GRE384sb	784 209		AC-8808
GRE384st	784 201		AC-8808
GRE384sw	784 207		AC-8808
GRE96ft_media área	675 161 675 101	675 801	AC-675801
GRE96fw_media área	675 074 675 075	675 094 675 095	AC-675801
GRE96fb_media área	675 077 675 076	675 097 675 096	AC-675801
Corning			
COS6ft	3506	3516	DWG00673
COS12ft	3512	3513	DWG00674
COS24ft	3524 3526	3527	DWG01261
COS48ft	3548		DWG00676

Fabricante / Nombre del pdfx	N.º de cat.		N.º de plano:
COS96fb	3916 3915	3925	DWG00120
COS96ft	3370	3628	DWG00120
COS96fw	3362 3912	3922	DWG00120
COS96rt	3360 3367 3788	3795 3358	DWG01123
COS96ft_media área	3690 3695	3697	DWG00122
COS384fb	3708 3709	3710	DWG00679
COS384ft	3680 3700	3701 3702	DWG00679
COS384fw	3703 3704	3705	DWG00679
COR96fb fondo transparente	3631		DWG00678
COR96fw fondo transparente	3632		DWG00678
COR96fb media área	3694		DWG00123
COR96fw media área	3693		DWG00123
COR96fb media área fondo transparente	3880		DWG01471
COR96fw media área fondo transparente	3883		DWG01471
COR96fc transparente a los UV	3635		DWG00678
COR96fc media área transparente a los UV	3679		DWG00678
COR384fb fondo transparente	3711		DWG00682
COR384fw fondo transparente	3706		DWG00682
COR384fc transparente a los 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

Fabricante / Nombre del pdfx	N.º de cat.		N.º de plano:
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 351162	351163 351164	MTP-0006
Tecan			
TEC96fb: Tecan 96 plana negra	30122298		—
TEC384fb: Tecan 384 plana negra	30122299		—
TEC96fw: Tecan 96 plana blanca	30122300		—
TEC384fw: Tecan 384 plana blanca	30122301		—
TEC24ft_cell: Tecan 24 cultivo celular plana blanca	30122302		—
TEC48ft_cell: Tecan 48 cultivo celular plana blanca	30122303		—
TEC96ft_cell: Tecan 96 cultivo celular plana blanca	30122304		—
TEC384ft_cell: Tecan 384 cultivo celular plana blanca	30122305		—
TEC96fb_cell_clear: Tecan 96 cultivo celular plana negra, fondo transparente	30122306		—
TEC384fb_cell_clear: Tecan 384 cultivo celular plana negra, fondo transparente	30122307		—
NanoQuantPlate	—		MTP-0007
PerkinElmer			

Fabricante / Nombre del pdfx	N.º de cat.	N.º de plano:
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: Las dimensiones corresponden a las placas OptiPlate de 384 pocillos

Tabla 1: Archivos de definición de placas y sus correspondientes números de catálogo

5.12.3 Detección de luminiscencia



ATENCIÓN

ENCIENDA EL INSTRUMENTO AL MENOS 15 MINUTOS ANTES DE EMPEZAR A HACER UNA MEDIDA DE LUMINISCENCIA. ALGUNOS COMPONENTES DEBEN CALENTARSE PARA GARANTIZAR UNAS CONDICIONES ESTABLES PARA LA MEDICIÓN.

El sistema de detección de luminiscencia del lector Infinite utiliza la técnica de medición por conteo de fotón único. Esa técnica se basa en un PMT de luminiscencia específico con una circuitería apropiada de medida. Esta técnica es muy robusta frente al ruido. Es la preferida para medidas de niveles de luz muy bajos.

Para lograr un rendimiento óptimo, se recomienda usar placas blancas para mediciones de luminiscencia. Para obtener más detalles consulte 4.9 Optimización de las mediciones de luminiscencia.



Nota

Los resultados de las mediciones de luminiscencia siempre se muestran en conteos por segundo (cps).



ATENCIÓN

EL INSTRUMENTO DEBE ESTAR SITUADO LEJOS DE LA INCIDENCIA DIRECTA DE LA LUZ SOLAR. UNA ILUMINACIÓN > 500 LUX PUEDE AFECTAR NEGATIVAMENTE A LAS MEDICIONES DE LA LUMINISCENCIA.

6. Control de calidad

6.1 Pruebas periódicas de control de calidad

En función de la utilización y la aplicación, recomendamos una evaluación periódica del instrumento en las instalaciones de Tecan en Austria.

Las pruebas descritas en las siguientes secciones no sustituyen a una evaluación completa realizada por el fabricante o los distribuidores autorizados. El usuario puede realizar periódicamente esas pruebas para comprobar los aspectos más significativos del funcionamiento del instrumento.

Los resultados se ven afectados en gran medida por los errores de pipeteado y la definición de los parámetros del instrumento; por lo tanto, siga las instrucciones con sumo cuidado. El usuario deberá determinar los intervalos apropiados para estas pruebas en función de la frecuencia con la que utilice el instrumento.

Es recomendable adaptar estas pruebas y los criterios de aceptación a la aplicación principal en el laboratorio. A ser posible, estas pruebas se deben realizar con las placas, fluoróforos, búferes, volúmenes y todos los parámetros apropiados (filtros, destellos, retardos, etc.) propios del laboratorio.



ATENCIÓN

ANTES DE EMPEZAR A HACER MEDIDAS, COMPRUEBE QUE LA POSICIÓN A1 DE LA MICROPLACA ESTÁ INSERTADA CORRECTAMENTE. LA POSICIÓN DE POCILLO A1 TIENE QUE ESTAR EN EL LADO SUPERIOR IZQUIERDO.



ATENCIÓN

ESTA SECCIÓN OFRECE INFORMACIÓN SOBRE CÓMO COMPROBAR LAS ESPECIFICACIONES DEL INSTRUMENTO. SI LOS RESULTADOS DE ESTAS PRUEBAS DE CONTROL NO SE ENCUENTRAN DENTRO DE LAS ESPECIFICACIONES OFICIALES DEL INSTRUMENTO, PÓNGASE EN CONTACTO CON SU SERVICIO TÉCNICO LOCAL.

6.2 Especificaciones - criterios de paso/fallo



Nota
Todas las especificaciones están sujetas a cambios sin notificación previa.

La siguiente tabla proporciona una visión general de los criterios de paso/fallo para el ensayo de especificación del lector Infinite.

Especificación	Criterios de paso/fallo
Sensibilidad fluorescencia parte superior	< 20 pM fluoresceína
Uniformidad fluorescencia parte superior	< 3 % CV
Precisión fluorescencia parte superior	< 2 % CV
Sensibilidad fluorescencia parte inferior	100 pM
Uniformidad fluorescencia parte inferior	< 3 % CV
Precisión fluorescencia parte inferior	< 2 % CV
Sensibilidad de la fluorescencia resuelta en el tiempo (solo para configuraciones del Infinite F)	< 150 fM (con 510 dicroico) < 3 pM (con espejo 50%)
Precisión de la fluorescencia resuelta en el tiempo (solo para configuraciones del Infinite F)	< 2 % CV
Precisión de la FP (solo para configuraciones del Infinite F)	< 5 mP
Sensibilidad de la fluorescencia tipo glow	< 3 fmol/pocillo
Sensibilidad de la fluorescencia tipo flash	< 80 amol/pocillo
Exactitud de la absorbancia	0 – 2 OD: $\leq \pm 1 \% + 10 \text{ mOD}$ 2 – 3 OD: $\leq \pm 2,5 \%$
Horizontalidad de la línea de base de absorbancia (1 sigma)	< $\pm 10 \text{ mOD}$
Exactitud de la longitud de onda de la absorbancia	$\leq \pm 1,5 \text{ nm } \lambda > 315 \text{ nm};$ $\leq \pm 0,8 \text{ nm } \lambda \leq 315 \text{ nm}$
Especificaciones de la cubeta (solamente para configuraciones del Infinite M)	Criterios de paso/fallo
Exactitud de la absorbancia	0 – 2 OD: $\leq \pm 1 \% + 10 \text{ mOD}$ 2 – 3 OD: $\leq \pm 2,5 \%$
Horizontalidad de la línea de base de absorbancia (1 sigma)	< $\pm 10 \text{ mOD}$

6.3 Especificaciones - Instrucciones del ensayo

6.3.1 Fluorescencia parte superior

Para el lector Infinite con la opción **Fluorescence Top** (fluorescencia parte superior), se pueden realizar los siguientes ensayos para comprobar las especificaciones:

- Sensibilidad
- Uniformidad
- Precisión

Estas instrucciones de ensayo son válidas para el lector Infinite:

- Configuraciones del Infinite F
- Configuraciones del Infinite M
- Versión con espectro ampliado

Sensibilidad

Realice la siguiente medición para determinar el límite de detección para la fluoresceína:

Parámetros de medición:

Parámetros	Ajuste
Modo de lectura	Fluorescencia parte superior
Longitud de onda de Ex	Configuraciones del Infinite F: 485 (20) nm Configuraciones del Infinite M: 485 nm
Longitud de onda de Em	Configuraciones del Infinite F: 535 (25) nm Configuraciones del Infinite M: 535 nm
Número de destellos	25
Tiempo de integración	40
Tiempo de asentamiento	0
Ganancia	Óptimo
Tipo de placa	GRE96fb

Diseño de la placa:

Pipetee 200 µl de fluoresceína 1 nM o de solución blanco (NaOH 0,01 M) en los pocillos apropiados según el diseño de la placa:

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

Material/Reactivos:

Fluoresceína 1 nM (en NaOH 0,01 mM) (sal de sodio de fluoresceína, sigma F6377)

NaOH 0,01 M (= blanco) (pellets de NaOH, artículo Merck n.º 6495 o sigma S8045)

1 placa Greiner de 96 pocillos negra

Pipeta de 200 µl + puntas

Cálculo del límite de detección (sensibilidad):

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

Concentration _F	Concentración del fluoróforo en unidades pM
mean _F	Valor promedio en RFU de los pocillos llenos de fluoróforo
mean _B	Valor promedio en RFU de los pocillos llenos de blanco
stdev _B	Desviación típica de los valores en RFU de los pocillos llenos de blanco

El resultado de la fórmula **Detection Limit** (límite de detección) determina la sensibilidad en unidades pM.

Uniformidad

Realice la siguiente medición para determinar la **Uniformity** (uniformidad):

Parámetros de medición:

Parámetros	Ajuste
Modo de lectura	Fluorescencia parte superior
Longitud de onda de Ex	Configuraciones del Infinite F: 485 (20) nm Configuraciones del Infinite M: 485 nm
Longitud de onda de Em	Configuraciones del Infinite F: 535 (25) nm Configuraciones del Infinite M: 535 nm
Número de destellos	25
Tiempo de integración	40
Tiempo de asentamiento	0
Ganancia	Óptimo
Tipo de placa	GRE96fb

Diseño de la placa:

Pipetee 200 µl de fluoresceína 1 nM o de solución blanco (NaOH 0,01 M) en los pocillos apropiados según el diseño de la placa:

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

Material/Reactivos:

Fluoresceína 1 nM (en NaOH 0,01 mM) (sal de sodio de fluoresceína, sigma F6377)

NaOH 0,01 M (= blanco) (pellets de NaOH, artículo Merck n.º 6495 o sigma S8045)

1 placa Greiner de 96 pocillos negra

Pipeta de 200 µl + puntas

Cálculo de la uniformidad:

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

mean _F	Valor promedio en RFU de los pocillos llenos de fluoróforo
stdev _F	Desviación típica de los valores en RFU de los pocillos llenos de fluoróforo

El resultado de la fórmula determina la uniformidad en % CV.

Precisión

Realice la siguiente medición para determinar la precisión/uniformidad:

Parámetros de medición:

Parámetros	Ajuste
Modo de lectura	Fluorescencia parte superior
Longitud de onda de Ex	Configuraciones del Infinite F: 485 (20) nm Configuraciones del Infinite M: 485 nm
Longitud de onda de Em	Configuraciones del Infinite F: 535 (25) nm Configuraciones del Infinite M: 535 nm
Número de destellos	25
Tiempo de integración	40
Tiempo de asentamiento	0
Ganancia	Óptimo
Tipo de placa	GRE96fb
Lado de la placa	A1
Cinética	20 ciclos
Intervalo de tiempo	Mínimo

Diseño de la placa:

Pipetee 200 µl de fluoresceína 1 nM o de solución blanco (NaOH 0,01 M) en los pocillos apropiados según el diseño de la placa:

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

Material/Reactivos:

Fluoresceína 1 nM (en NaOH 0,01 mM)
 (sal de sodio de fluoresceína, sigma F6377)
 NaOH 0,01 M (= blanco) (pellets de NaOH, artículo Merck n.º 6495 o sigma S8045)
 1 placa Greiner de 96 pocillos negra
 Pipeta de 200 µl + puntas

Cálculo de la precisión:

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

mean _{wellA1}	Valor promedio en RFU del pocillo A1 con cinética 20
stdev _{wellA1}	Desviación típica de los valores en RFU del pocillo A1 tras los 20 ciclos

El resultado de la fórmula determina la precisión en % CV.

6.3.2 Fluorescencia parte inferior

Para el lector Infinite con la opción **Fluorescence Bottom** (fluorescencia parte inferior), se pueden realizar los siguientes ensayos para comprobar las especificaciones:

- Sensibilidad
- Uniformidad
- Precisión/Repetibilidad

Estas instrucciones de ensayo son válidas para el lector Infinite:

- Configuraciones del Infinite F
- Configuraciones del Infinite M
- Versión con espectro ampliado

Sensibilidad

Realice la siguiente medición para determinar el límite de detección para la fluoresceína:

Parámetros de medición:

Parámetros	Ajuste
Modo de lectura	Fluorescencia parte inferior
Longitud de onda de Ex	Configuraciones del Infinite F: 485 (20) nm Configuraciones del Infinite M: 485 nm
Longitud de onda de Em	Configuraciones del Infinite F: 535 (25) nm Configuraciones del Infinite M: 535 nm
Número de destellos	25
Tiempo de integración	40
Tiempo de asentamiento	0
Ganancia	Óptimo
Tipo de placa	GRE96fb

Diseño de la placa

Pipetee 200 µl de fluoresceína 25 nM o de solución blanco (NaOH 0,01 M) en los pocillos apropiados según el diseño de la placa:

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

Material/Reactivos:

Fluoresceína 25 nM (en NaOH 0,01 M)
 (sal de sodio de fluoresceína, sigma F6377)
 NaOH 0,01 M (= blanco) (pellets de NaOH, artículo Merck n.º 6495 o sigma S8045)
 1 placa Greiner de 96 pocillos µClear, negra con fondo transparente
 Pipeta de 200 µl + puntas

Cálculo del límite de detección (sensibilidad):

Consulte 6.3.1 Fluorescencia parte superior: Sensibilidad.

Uniformidad

Realice la siguiente medición para determinar la uniformidad:

Parámetros de medición:

Parámetros	Ajuste
Modo de lectura	Fluorescencia parte inferior
Longitud de onda de Ex	Configuraciones del Infinite F: 485 (20) nm Configuraciones del Infinite M: 485 nm
Longitud de onda de Em	Configuraciones del Infinite F: 535 (25) nm Configuraciones del Infinite M: 535 nm
Número de destellos	25
Tiempo de integración	40
Tiempo de asentamiento	0
Ganancia	Óptimo
Tipo de placa	GRE96fb

Diseño de la placa:

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

Volumen de llenado: 200 µl

Material/Reactivos:

Fluoresceína 25 nM (en NaOH 0,01 M)
 (sal de sodio de fluoresceína, sigma F6377)
 NaOH 0,01 M (= blanco) (pellets de NaOH, artículo Merck n.º 6495 o sigma S8045)
 1 placa Greiner de 96 pocillos µClear, negra con fondo transparente
 Pipeta de 200 µl + puntas

Cálculo de la uniformidad:

Consulte 6.3.1 Fluorescencia parte superior: Uniformidad.

Precisión

Realice la siguiente medición para determinar la precisión/uniformidad:

Parámetros de medición:

Parámetros	Ajuste
Modo de lectura	Fluorescencia parte inferior
Longitud de onda de Ex	Configuraciones del Infinite F: 485 (20) nm Configuraciones del Infinite M: 485 nm
Longitud de onda de Em	Configuraciones del Infinite F: 535 (25) nm Configuraciones del Infinite M: 535 nm
Número de destellos	25
Tiempo de integración	40
Tiempo de asentamiento	0
Ganancia	Óptimo
Tipo de placa	GRE96fb
Lado de la placa	A1
Cinética	20 ciclos
Intervalo de tiempo	Mínimo

Diseño de la placa:

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

Volumen de llenado: 200 µl

Material/Reactivos:

Fluoresceína 25 nM (en NaOH 0,01 mM)
 (sal de sodio de fluoresceína, sigma F6377)
 NaOH 0,01 M (= blanco) (pellets de NaOH, artículo Merck n.º 6495 o
 sigma S8045)
 1 placa Greiner de 96 pocillos µClear, negra con fondo transparente
 Pipeta de 200 µl + puntas

Cálculo de la precisión:

Consulte 6.3.1 Fluorescencia parte superior: Precisión.

6.3.3 Fluorescencia resuelta en el tiempo

Para el lector Infinite con la opción **Fluorescence Top** (fluorescencia parte superior), se pueden realizar los siguientes ensayos para comprobar las especificaciones:

- Sensibilidad
- Precisión/Repetibilidad

Estas instrucciones de ensayo son válidas para las configuraciones del Infinite F.

Sensibilidad

Realice la siguiente medición para determinar la sensibilidad:

Parámetros de medición:

Parámetros	Ajuste
Modo de lectura	Fluorescencia parte superior
Longitud de onda de Ex	Configuraciones del Infinite F: 340 (35) nm Configuraciones del Infinite M: 340 nm
Longitud de onda de Em	Configuraciones del Infinite F: 612 (10) nm Configuraciones del Infinite M: 617 nm
Número de destellos	25
Tiempo de integración	400
Retardo	100
Tiempo de asentamiento	0
Ganancia	Óptimo
Tipo de placa	GRE96fw

Diseño de la placa:

Pipetee 200 µl de solución de europio 1 nM o la solución blanco (solución potenciadora) en los pocillos apropiados según el diseño de la placa:

<>	1	2	3	4	5	...
A	Europio 1 nM	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	
B						
C						
D						
E						
F						
G						
H						

Material/Reactivos:

- Europio 1 nM (B119-100, HVD Live Sciences)
- Solución potenciadora (= blanco) (1244-105, HVD Live Sciences)
- 1 placa Greiner de 96 pocillos blanca
- Pipeta de 200 µl + puntas

Cálculo del límite de detección (sensibilidad):

Consulte 6.3.1 Fluorescencia parte superior: Sensibilidad.

Precisión

Realice la siguiente medición para determinar la precisión/uniformidad:

Parámetros de medición:

Parámetros	Ajuste
Modo de lectura	Fluorescencia parte superior
Longitud de onda de Ex	Configuraciones del Infinite F: 340 (35) nm Configuraciones del Infinite M: 340 nm
Longitud de onda de Em	Configuraciones del Infinite F: 612 (10) nm Configuraciones del Infinite M: 617 nm
Número de destellos	25
Tiempo de integración	400
Retardo	100
Tiempo entre el movimiento y el destello	0
Ganancia	Óptimo
Tipo de placa	GRE96fw
Lado de la placa	A1
Cinética	20 ciclos
Intervalo de tiempo	Mínimo

Diseño de la placa:

Consulte 6.3.3 Fluorescencia resuelta en el tiempo Precisión.

Cálculo de la precisión:

Consulte 6.3.1 Fluorescencia parte superior: Precisión.

6.3.4 Polarización de fluorescencia (solamente en el Infinite F Plex)

Para el lector Infinite con la opción **Fluorescence Polarización** (polarización de fluorescencia), se pueden realizar los siguientes ensayos para comprobar las especificaciones:

- Precisión/Repetibilidad

Estas instrucciones de ensayo solamente son válidas para el Infinite F Plex:

- Versión con espectro ampliado

Precisión

Realice la siguiente medición para determinar la precisión:

Parámetros de medición:

Parámetros	Ajuste
Modo de lectura	Polarización de fluorescencia
Longitud de onda de Ex	485 (20) nm
Longitud de onda de Em	535 (25) nm
Número de destellos	25
Tiempo de integración	40
Retardo	0
Tiempo entre el movimiento y la lectura	0
Ganancia	Óptimo
Tipo de placa	GRE96fb
Referencia desde/hasta	A1 – D1
Blanco de referencia desde/hasta	A2 – D2
Valor de referencia	20 mP
Blanco de medición desde/hasta	Mismo que el blanco de referencia

Diseño de la placa:

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

Volumen de llenado: 200 µl/pocillo

Material/Reactivos:

Fluoresceína 1 nM (en NaOH 0,01 mM)
 (sal de sodio de fluoresceína, sigma F6377)
 NaOH 0,01 M (= blanco) (pellets de NaOH, artículo Merck n.º 6495 o sigma S8045)
 1 placa Greiner de 96 pocillos, negra, fondo plano
 Pipeta de 200 µl + puntas

Cálculo de la precisión:

La precisión se calcula a partir de los pocillos llenos de fluoresceína. La precisión corresponde a una vez la desviación típica de los valores de mP de los pocillos de fluorescencia.

6.3.5 Luminiscencia glow

Para el lector Infinite con la opción **Luminiscencia** (luminiscencia), se pueden realizar los siguientes ensayos para comprobar las especificaciones sobre sensibilidad:

Sensibilidad

Realice la siguiente medición para determinar la sensibilidad:

Parámetros de medición:

Parámetros	Ajuste
Modo de lectura	Luminiscencia
Tiempo de integración	1000 ms
Tiempo de asentamiento	0
Tipo de placa	GRE96fw
Lado de la placa	A1 – D10

Diseño de la placa:

Pipetee 200 µl de reactivos de ATP en los pocillos apropiados según el diseño de la placa:

	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 (concentración final en el pocillo)
B	Blanco (reactivo ATP: Tris-EDTA=1:5)
Bx	Blanco (pocillos utilizados para el cálculo de la diafonía)

Material/Reactivos:

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

1 placa Greiner de 96 pocillos blanca

Pipeta de 200 µl + puntas

Cálculo de la sensibilidad (límite de detección):

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

2*10 ⁻⁸	Concentración de ATP estándar [M]
Stdev _B	Desviación estándar del blanco
mean _{ATP}	Promedio de pocillos llenos de ATP estándar
mean _B	Promedio de pocillos con blanco
0,0002	Conversión a mol/pocillo
1/1e ⁻¹⁵	Conversión a fmol/pocillo

El resultado de la fórmula determina el límite de detección en fmol/pocillo.

6.3.6 Exactitud de la absorbancia

Utilice una placa MultiCheck – Para obtener más detalles consulte las instrucciones de uso de la placa MultiCheck.

6.3.7 Exactitud de la longitud de onda de la absorbancia

La exactitud de la longitud de onda define la desviación de las longitudes de onda de la medición definidas para la longitud de onda nominal. Este ensayo es válido exclusivamente para las configuraciones del Infinite M.

Parámetros de medición:

Parámetros	Ajuste
Modo de lectura	Exploración de absorbancia
Longitud de onda de medición desde/hasta	300 – 850 nm
Tamaño de paso	1 nm
Número de destellos	25
Tiempo de asentamiento	0
Tipo de placa	Placa Multicheck

Material/Reactivos:

Placa Multicheck

Cálculo de la exactitud de la longitud de onda:

Consulte la hoja de datos incluida en las instrucciones de uso de la placa MultiCheck.

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

Max _t	máximo teórico
Max _m	máximo medido

6.3.8 *Horizontalidad de la línea base de absorbancia (configuraciones del Infinite M)*

Realice la siguiente medición para determinar la horizontalidad de la línea de base:

Parámetros de medición:

Parámetros	Ajuste
Modo de lectura	Absorbancia
Longitud de onda de medición desde/hasta	300 - 700 nm
Número de destellos	25
Tiempo de asentamiento	0
Tipo de placa	GRE96ft
Lado de la placa	A1

Diseño de la placa:

No se necesita la placa base para la medición – el portaplacas debe estar vacío para realizar esta medición.

Material/Reactivos:

No se necesita material ni reactivos para este ensayo.

Cálculo de la horizontalidad de la línea de base:

Calcule la desviación típica.

6.3.9 *Horizontalidad de la línea base de absorbancia (configuraciones del Infinite F)*

Realice la siguiente medición para determinar la horizontalidad de la línea de base con el filtro disponible:

Parámetros de medición:

Parámetros	Ajuste
Modo de lectura	Absorbancia
Longitud de onda de medición	340 nm 405 nm 492 nm 590 nm 620 nm 700 nm
Número de destellos	25
Tiempo de asentamiento	0
Tipo de placa	GRE96ft
Lado de la placa	A1
Ciclos cinéticos	20, intervalo de tiempo mínimo

Diseño de la placa:

No se necesita la placa base para la medición – el portaplaquetas debe estar vacío para realizar esta medición.

Material/Reactivos:

No se necesita material ni reactivos para este ensayo.

Cálculo de la horizontalidad de la línea de base:

Calcule la desviación típica tras 20 ciclos para cada longitud de onda.

6.3.10 Cubeta de absorbancia (solamente para configuraciones del Infinite M)

Para las configuraciones del Infinite M con la opción **Cuvette** (cubeta), se pueden realizar los siguientes ensayos para comprobar la exactitud de las especificaciones:

Exactitud

Realice la siguiente medición para determinar la exactitud de la absorbancia:

Parámetros de medición:

Parámetros	Ajuste
Modo de lectura	Absorbancia
Longitud de onda de medición	1) 440 nm 2) 635 nm
Número de destellos	25
Tiempo entre el movimiento y la lectura	0
Tipo de cubeta	Cubeta calibrada, p.ej. Starna RM-N1N35N + una cubeta D3

Materiales:

Material de referencia Starna® RM-N1N35N + cubeta D3
(para obtener más información, acuda a www.starna.co.uk)

Cálculo de la exactitud:

Calcule la desviación del valor medido a partir del valor de referencia proporcionado con la cubeta calibrada.

7. Limpieza y mantenimiento

7.1 Introducción



ATENCIÓN

ASEGÚRESE DE RETIRAR DEL INSTRUMENTO LA MICROPLACA ANTES DE PREPARARLO PARA SU ENVÍO. SI SE DEJA UNA MICROPLACA EN EL INSTRUMENTO, PODRÍAN DERRAMARSE SOLUCIONES FLUORESCENTES SOBRE LAS PIEZAS ÓPTICAS Y DAÑAR EL INSTRUMENTO.

Los procedimientos de limpieza y mantenimiento son importantes para alargar la vida del instrumento y reducir el número de reparaciones.

Esta sección contiene los siguientes procedimientos:

- Derrames de líquidos
- Desinfección del instrumento
- Certificado de desinfección
- Eliminación del instrumento y del material



ADVERTENCIA

TODAS LAS PARTES DEL INSTRUMENTO QUE ENTRAN EN CONTACTO CON MATERIALES POTENCIALMENTE INFECCIOSOS SE DEBEN TRATAR COMO ÁREAS POTENCIALMENTE INFECCIOSAS. ES ACONSEJABLE SEGUIR LAS PRECAUCIONES DE SEGURIDAD APLICABLES (INCLUYENDO EL USO DE GUANTES SIN TALCO, GAFAS DE SEGURIDAD Y ROPA DE PROTECCIÓN) PARA EVITAR UNA POSIBLE CONTAMINACIÓN POR ENFERMEDADES INFECCIOSAS AL REALIZAR PROCEDIMIENTOS DE LIMPIEZA Y AL REALIZAR AJUSTES EN EL INSTRUMENTO.

7.2 Derrames de líquidos

1. APAGUE el instrumento.
2. Limpie los derrames inmediatamente con material absorbente.
3. Deseche el material contaminado como corresponda.
4. Limpie las superficies del instrumento con un detergente suave.
5. Si se producen derrames biopeligrosos, límpielos con B30 (Orochemie, Max-Planck-Str. 27, D-70806 Kornwestheim).
6. Seque las áreas que ha limpiado.



ADVERTENCIA

APAGUE SIEMPRE EL INSTRUMENTO ANTES DE LIMPIAR CUALQUIER TIPO DE DERRAME SOBRE ÉL. TODOS LOS DERRAMES SE DEBEN TRATAR COMO POTENCIALMENTE INFECCIOSOS. POR LO TANTO, RESPETE EN TODO MOMENTO LAS MEDIDAS DE SEGURIDAD APLICABLES (INCLUYENDO EL USO DE GUANTES SIN TALCO, GAFAS DE SEGURIDAD Y ROPA DE PROTECCIÓN) PARA EVITAR UNA POSIBLE CONTAMINACIÓN POR ENFERMEDADES INFECCIOSAS.

ADEMÁS, TODOS LOS RESIDUOS RESULTANTES DEL PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA SE DEBEN TRATAR COMO POTENCIALMENTE INFECCIOSOS Y SU ELIMINACIÓN SE DEBE REALIZAR DE ACUERDO CON LA INFORMACIÓN DADA EN EL CAPÍTULO 7.4.4 ELIMINACIÓN.

SI EL DERRAME SE PRODUCE EN EL INSTRUMENTO, SERÁ PRECISO LLAMAR A UN TÉCNICO DE MANTENIMIENTO.



ADVERTENCIA

ASEGÚRESE DE EXTRAER LA MICROPLACA DEL INSTRUMENTO ANTES DE QUE ESTÉ LISTO PARA SU ENVÍO. SI ALGUNA DE LAS MICROPLACAS SE QUEDARA EN EL INTERIOR DEL INSTRUMENTO, PODRÍAN DERRAMARSE SOLUCIONES FLUORESCENTES SOBRE LAS PARTES ÓPTICAS Y DAÑAR EL INSTRUMENTO.

7.3 Limpieza y mantenimiento de inyectores

El mantenimiento requerido puede variar con su aplicación. Se recomiendan los siguientes procedimientos para un funcionamiento óptimo y una duración máxima del sistema de inyector.



ATENCIÓN

PARA EVITAR MEZCLAR REACTIVOS Y CONTAMINACIONES CRUZADAS, LAVE CONCIENZUDAMENTE TODO EL SISTEMA INYECTOR ENTRE DISTINTAS APLICACIONES QUE REQUIERAN USAR INYECTORES.

7.3.1 *Mantenimiento diario*

Si el fabricante del kit usado no indica lo contrario, deberán realizarse las siguientes tareas al menos una vez al día:

- Inspeccionar las bombas y los tubos para detectar fugas.
- Enjuagar todo el sistema a fondo con agua destilada o desionizada después de cada uso y cuando la bomba no esté en uso. Si no se hace de ese modo, podría producirse la cristalización de los reactivos. Estos cristales podrían dañar la junta de la jeringa y el obturador de la válvula, pudiendo generar fugas.



ATENCIÓN

NO DEJE QUE LAS BOMBAS FUNCIONEN EN SECO DURANTE MÁS DE UNOS POCOS CICLOS.

7.3.2 *Mantenimiento semanal/periódico*

El sistema inyector (tubos, jeringas y agujas de inyección) se debe limpiar semanalmente para eliminar precipitados, como sales, y el crecimiento bacteriano:

Siga estos pasos para limpiar el sistema de bombas/inyector con EtOH (etanol) al 70 %:

1. En función de la aplicación del usuario, enjuague a fondo el sistema con búfer o con agua destilada antes de lavarlo con EtOH al 70 %.
2. Ceba la bomba con EtOH al 70 % con jeringas completamente bajadas durante 30 minutos.
3. Al cabo de esos 30 minutos, deseche todo el fluido de la jeringa y los tubos en un contenedor de residuos.
4. Lave el sistema bomba/inyector con EtOH al 70 %
5. Lave el sistema bomba/inyector con agua destilada o desionizada
6. Ceba el sistema de bombeo/inyector con agua destilada. Deje la vía para el líquido rellena para almacenamiento.
7. Limpie con cuidado el extremo de las agujas del inyector con un bastoncillo de algodón empapado en isopropanol o etanol al 70 %.



ADVERTENCIA

¡HAY RIESGO DE INCENDIO Y EXPLOSIÓN!

EL ETANOL ES INFLAMABLE Y, SI SE MANIPULA INCORRECTAMENTE, PODRÍA DAR LUGAR A EXPLOSIONES. SE DEBEN SEGUIR LAS MEDIDAS APROPIADAS DE SEGURIDAD DEL LABORATORIO.

7.4 Desinfección del instrumento

Todas las partes del instrumento que entren en contacto con las muestras del paciente, muestras de control positivo o material peligroso se deben tratar como áreas potencialmente infecciosas.



ADVERTENCIA
EL PROCEDIMIENTO DE DESINFECCIÓN DEBE REALIZARSE SIGUIENDO LAS NORMAS NACIONALES, REGIONALES Y LOCALES PERTINENTES.



ADVERTENCIA
TODAS LAS PARTES DEL INSTRUMENTO QUE ENTRAN EN CONTACTO CON MATERIALES POTENCIALMENTE INFECCIOSOS SE DEBEN TRATAR COMO ÁREAS POTENCIALMENTE INFECCIOSAS.
ES ACONSEJABLE SEGUIR LAS MEDIDAS DE PRECAUCIÓN APLICABLES (INCLUYENDO EL USO DE GUANTES SIN TALCO, GAFAS DE SEGURIDAD Y ROPA DE PROTECCIÓN) PARA EVITAR UNA POSIBLE CONTAMINACIÓN POR ENFERMEDADES INFECCIOSAS AL REALIZAR EL PROCEDIMIENTO DE DESINFECCIÓN.

Antes de devolver el instrumento al distribuidor para su mantenimiento, deberá ser desinfectado y se emitirá un certificado de desinfección. Si no se adjunta un certificado de desinfección, el centro de servicio técnico podría no aceptar el instrumento, o podría ser incautado por las autoridades aduaneras.

7.4.1 Soluciones desinfectantes

El instrumento debe ser desinfectado utilizando la siguiente solución:

- B30 (Orochemie, Max-Planck-Str. 27; D-70806 Kornwestheim)

7.4.2 Procedimiento de desinfección



ADVERTENCIA
EL PROCEDIMIENTO DE DESINFECCIÓN SE DEBERÁ REALIZAR EN UNA SALA BIEN VENTILADA ÚNICAMENTE POR PARTE DE PERSONAL AUTORIZADO Y FORMADO QUE USE GUANTES SIN TALCO DESECHABLES, GAFAS DE SEGURIDAD Y ROPA DE PROTECCIÓN.

Si el laboratorio no tiene un procedimiento específico de desinfección, se deberá seguir el siguiente procedimiento para desinfectar las superficies externas del instrumento:

1. Desconecte el instrumento de la alimentación eléctrica.
2. Desconecte el instrumento de todos los accesorios que esté utilizando.
3. Limpie con cuidado todas las superficies exteriores del instrumento con un trocito de algodón empapado en la solución desinfectante.
4. Realice el mismo procedimiento de desinfección con el portaplacas.
5. Repita el procedimiento de desinfección con todos los accesorios que vaya a devolver.

6. Una vez realizado el procedimiento de desinfección, asegúrese de cumplimentar el certificado de desinfección.
7. Cumplimente un certificado de seguridad y adhiéralo al exterior de la caja, de manera que quede claramente visible.

Consulte a continuación 7.4.3 Certificado de seguridad para ver un ejemplo de certificado de seguridad, que se debe cumplimentar antes de devolver el instrumento al distribuidor para su mantenimiento o reparación.

7.4.3 **Certificado de seguridad**

Para garantizar la seguridad e higiene del personal, pedimos a nuestros clientes que, antes de enviar el instrumento al servicio técnico para su mantenimiento o reparación, cumplimenten dos copias del **Certificado de seguridad** (que se ha entregado junto con el instrumento) y adjunten una copia en la parte superior del contenedor utilizado para devolver el instrumento (debe ser visible desde el exterior del contenedor de transporte) y adjunten la otra copia a los documentos del envío.

Antes de su envío, el instrumento se deberá descontaminar y desinfectar en las instalaciones de la autoridad competente (véase 7.4.2 Procedimiento de desinfección).

El procedimiento de descontaminación y desinfección lo deberá realizar en una sala bien ventilada únicamente personal autorizado y formado que use guantes sin talco desechables, gafas de seguridad y ropa de protección.

El procedimiento de descontaminación y desinfección debe realizarse siguiendo las normas nacionales, regionales y locales pertinentes.

Si no se adjunta un Certificado de seguridad, el centro de servicio técnico podría no aceptar el instrumento.

Su centro de servicio técnico Tecan le enviará una nueva copia del certificado de seguridad en caso necesario.

7.4.4 **Eliminación**

Siga los procedimientos de laboratorio para el manejo de residuos biopeligrosos según la normativa nacional y local.

Esta sección contiene instrucciones para eliminar el instrumento conforme con la ley de materiales de desecho acumulados.



ATENCIÓN
SIGA TODAS LAS REGLAMENTACIONES MEDIOAMBIENTALES A NIVEL COMUNITARIO, NACIONAL Y LOCAL.



ATENCIÓN
DIRECTIVA 2002/96/CE PARA RESIDUOS PROCEDENTES DE EQUIPOS ELÉCTRICOS Y ELECTRÓNICOS (WEEE)
IMPACTO AMBIENTAL NEGATIVO ASOCIADO AL TRATAMIENTO DE RESIDUOS DE EQUIPOS ELÉCTRICOS Y ELECTRÓNICOS

- **NO TRATE LOS APARATOS ELÉCTRICOS Y ELECTRÓNICOS COMO RESIDUOS URBANOS SIN CLASIFICAR.**
- **CLASIFIQUE POR SEPARADO LOS DESECHOS PROCEDENTES DE EQUIPOS ELÉCTRICOS Y ELECTRÓNICOS.**

7.4.5 Eliminación del material de embalaje

De acuerdo con la Directiva 94/62/CE sobre embalajes y residuos de embalajes, el fabricante es responsable de eliminar el material de embalaje.

Devolución del material de embalaje

Si no es su intención guardar el material de embalaje para su uso futuro, por ejemplo, para traslados o almacenamiento, devuelva al fabricante el embalaje del producto, las piezas de repuesto y los elementos opcionales a través de su representante técnico local.

7.4.6 Eliminación de materiales operativos



ADVERTENCIA

LOS MATERIALES DE DESECHO (MICROPLACA) PRODUCIDOS EN LOS PROCESOS DE USO DEL INSTRUMENTO PODRÍAN IR ASOCIADOS A PELIGROS BIOLÓGICOS.

TRATE LAS MICROPLACAS YA USADAS, OTROS ELEMENTOS DESECHABLES Y TODAS LAS SUSTANCIAS CONSUMIDAS CONFORME A LAS DIRECTRICES DE BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO.

AVERIGÜE LOS PUNTOS DE RECOGIDA APROPIADOS Y LOS MÉTODOS DE ELIMINACIÓN DE RESIDUOS APROBADOS EN SU PAÍS, ESTADO O REGIÓN.

7.4.7 Eliminación del instrumento

Antes de eliminar el instrumento, contacte con su representante local de servicio de Tecan.



ATENCIÓN

ANTES DE SU ELIMINACIÓN, DESINFECTE SIEMPRE EL INSTRUMENTO.

Grado de polución	2 (IEC/EN 61010-1)
Método de eliminación	Residuo contaminado



ADVERTENCIA

DEPENDIENDO DE LAS APLICACIONES, ALGUNAS PARTES DEL INSTRUMENTO PODRÍAN HABER ESTADO EN CONTACTO CON MATERIALES BIOPELIGROSOS.

- **ASEGÚRESE DE QUE TRATA ESTE MATERIAL DE ACUERDO CON LOS ESTÁNDARES Y REGLAMENTACIONES DE SEGURIDAD APLICABLES.**
- **DESCONTAMINE SIEMPRE TODAS LAS PARTES DEL INSTRUMENTO ANTES DE SU ELIMINACIÓN (ES DECIR, LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN).**

8. Resolución de problemas

N.º de error	Texto del error	Descripción
1	Command is not valid (El comando no es válido)	Error no específico en el instrumento - protocolo de comunicación con el ordenador. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
2	Parameter out of range (Parámetro fuera de rango)	Error no específico en el instrumento - protocolo de comunicación con el ordenador. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
3	Wrong number of parameters (Número de parámetros incorrecto)	Error no específico en el instrumento - protocolo de comunicación con el ordenador. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
4	Invalid parameter (Parámetro no válido)	Error no específico en el instrumento - protocolo de comunicación con el ordenador. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
5	Invalid Parameter at pos (Parámetro no válido en la pos)	Error no específico en el instrumento - protocolo de comunicación con el ordenador. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
6	[prefix] is missing (falta [prefijo])	Error no específico en el instrumento - protocolo de comunicación con el ordenador. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
7	RS485 Timeout at module [module descr] (RS485 Tiempo agotado en el módulo [descr módulo])	Error interno de comunicación no especificado. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
8	Invalid module number [Nr] (Número de módulo [Nr] no válido)	Error no específico en el instrumento - protocolo de comunicación con el ordenador. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
9	Binary Transfer command: [cmd] at module [n] (Comando de transferencia binaria: [cmd] en módulo [n])	Error interno de comunicación no especificado. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
10	Error at command [cmd] at module [n], (Error en el comando [cmd] del módulo [n],)	Error interno de comunicación no especificado. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
11	LID open (TAPA abierta)	La tapa del transporte de placas o de la placa de filtros se abrió durante una medición, o el instrumento ha sido utilizado en un entorno demasiado brillante (>> 500 LUX). Compruebe si tapa se cierra completamente y si el entorno es demasiado brillante.
12	LUMI FIBER broken (LUMI FIBER se ha roto)	Fallo en el hardware del módulo de luminiscencia. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.

N.º de error	Texto del error	Descripción
13	Z Motor out of Safety-Range (Motor Z fuera del rango de seguridad)	Error no específico en el instrumento - protocolo de comunicación con el ordenador. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
14	Filter is not defined (No se ha definido el filtro)	Error no específico en el instrumento - protocolo de comunicación con el ordenador. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
15	X drive init error (Error de inicialización del controlador X)	Error en el hardware del módulo de transporte de placas. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
16	Y drive init error (Error de inicialización del controlador Y)	Error en el hardware del módulo de transporte de placas. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
17	Z drive init error (error de inicialización del controlador Z)	Fallo en el hardware del módulo del controlador Z. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
18	Injector A not available (Inyector A no disponible)	Error de hardware en el inyector A. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan local.
19	Injector B not available (Inyector B no disponible)	Error de hardware en el inyector B. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan local.
20	Injector Init Error: (Error de inicialización del inyector)	Fallo en el hardware del módulo del inyector. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
21	Invalid Command: [cmd] (Comando no válido: [cmd])	Error interno de comunicación no especificado. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
22	Invalid Operand: [cmd] (Operando no válido: [cmd])	Error interno de comunicación no especificado. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
23	Invalid Command Sequence: [cmd] Ssecuencia de comandos no válida: [cmd])	Error interno de comunicación no especificado. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
24	N/A (N/D)	(N/D)
25	Injector not init.: [cmd] (Inyector no inicializado: [cmd])	Error interno de comunicación no especificado. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
26	Plunger Overload: (Sobrecarga del émbolo:)	Error interno de comunicación no especificado. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
27	Valve Overload: (Sobrecarga de la válvula:)	Error interno de comunicación no especificado. Comuníquese este error a su oficina de servicio técnico Tecan.

N.º de error	Texto del error	Descripción
28	Plunger Move not allowed: (Movimiento del émbolo no permitido:)	Error interno de comunicación no especificado. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
29	Command Overflow (Exceso de comandos)	Error interno de comunicación no especificado. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
30	Prepare: [s]: Gain: [g], Counts: [cts] (Preparación: [s]; Ganancia: [g] Conteos: [cts])	Error de hardware no especificado. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
31	[ERR] at module [mod] (cmd: [cmd]) ([ERR] en el módulo [mod] (cmd: [cmd]))	Error de hardware no especificado. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
32	MTP is in Out-Position (El MTP está fuera de posición)	Error no específico en el instrumento - protocolo de comunicación con el ordenador. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
33	[val] ... not set at (Ratiolabel [n]) ([val]... no ajustado a (Ratiolabel [n]))	Error no específico en el instrumento - protocolo de comunicación con el ordenador. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
34	Injectors are not enabled (Los inyectores no están habilitados)	Error no específico en el instrumento - protocolo de comunicación con el ordenador. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
35	Invalid Parameter Length (max: [n] char allowed) (Longitud de parámetro no válida (máx: [n] caracteres permitidos))	Error no específico en el instrumento - protocolo de comunicación con el ordenador. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
36	Checksum Error (Error suma de control)	Error de comunicación en la interfaz USB. Comunique este error a su oficina de servicio técnico local.
37	Init Error at module [mod#] (Error de inicialización en el módulo [mod#])	Error de hardware no especificado. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
38	Instrument Initialization Error (Error de inicialización del instrumento)	Error de hardware no especificado. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
39	Injector A Communication Timeout (Tiempo de comunicación agotado en el inyector A)	Error de comunicación en la interfaz del Inyector. Comunique este error a su oficina de servicio técnico local.
40	Injector B Communication Timeout (Tiempo de comunicación agotado en el inyector B)	Error de comunicación en la interfaz del Inyector. Comunique este error a su oficina de servicio técnico local.
41	Prime Wash Error (Error en el cebado/lavado)	Los inyectores siguen cebando/lavando. Espere hasta que el proceso de cebado o lavado haya finalizado.

N.º de error	Texto del error	Descripción
42	Instrument is locked (El instrumento está bloqueado)	El instrumento está bloqueado debido a un grave problema de hardware. Para desbloquearlo, se debe reiniciar. Comunique este error a su oficina de servicio técnico local.
43	Prepare: [channel]: Wavelength: [lambda], Gain: [g], Counts: [cts] (Preparación: [canal] Longitud de onda: [lambda], Ganancia: [g] Conteos: [cts])	Error de hardware no especificado. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
44	Steploss Error (Error de pérdida de paso)	Fallo del actuador. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
45	Sync Scan: Number of EX-Steps does not match EM-Steps (Exploración de sincronización: el número de etapas de EX no coincide con las de EM)	Error no específico en el instrumento - protocolo de comunicación con el ordenador. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
46	Handshake timeout at module (Tiempo de acuse de recibo agotado en el módulo)	Error de hardware no especificado. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
47	Motor Timeout (Tiempo del motor agotado)	Error de hardware no especificado. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
48	[Value] is not in defined a Range ([valor] no está dentro de un rango definido)	Error de hardware no especificado. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.
49	Sensor is broken (El sensor está roto)	Fallo en el sensor. Comunique este error a su oficina de servicio técnico Tecan.

Índice

A			
Absorbancia.....	21, 111		
Filtro de absorbancia.....	33		
Filtro para la horizontalidad de la línea de base.....	138		
Horizontalidad de la línea de base.....	138		
Óptica de absorbancia.....	34		
Absorbancia del sistema óptico.....	35		
Accesorios.....	117		
Agitación.....	51		
Ajustes del factor G.....	67		
Ajustes del flash.....	64		
Anisotropía.....	71		
Apagado.....	104		
Arranque del instrumento.....	50		
B			
Borde para MRW.....	75		
C			
Características del instrumento.....	105		
Características del software para MRW.....	76		
Certificado de seguridad.....	146		
Condensador.....	25, 31		
Control de calidad.....	123		
Control de temperatura.....	50		
Cubeta para la detección de la absorbancia... ..	41		
D			
desbordamiento.....	60		
Desconectar.....	104		
Descripción general.....	11		
Desinfección.....	145		
Certificado de seguridad.....	146		
Detección de la absorbancia.....	35		
Detección de la intensidad de fluorescencia... ..	27		
E			
Ejemplos de cubetas			
i-control.....	94		
Ejemplos en i-control.....	100		
Eliminación			
Instrumento.....	146		
Material de embalaje.....	147		
Materiales operativos.....	147		
Encendido del instrumento.....	50		
Espejo de fluorescencia parte inferior.....	27		
Etiquetado múltiple.....	51		
Exactitud			
Cubeta para absorbancia.....	139		
Exactitud de la longitud de onda.....	137		
Excitación.....	31		
F			
Factor G.....	71		
Factor G sin calibrar.....	68		
Filtro de emisión.....	32		
Filtro paso banda.....	33		
Filtros			
Recomendación de.....	117		
Finalización de una sesión de medición.....	104		
Fluorescencia.....	19		
Óptica de fluorescencia.....	26		
Óptica de fluorescencia parte superior.....	31		
Fluorescencia resuelta en el tiempo (TRF).....	20		
Fotodiodo de silicio.....	26		
FRET.....	19		
G			
Ganancia.....	60		
H			
Haz de fibras fluorescentes.....	27		
I			
i-control e inyectores.....	88		
Inmovilizadores de transporte.....	45		
Instalación.....	43		
Instrucciones para el ensayo de especificación.....	125		
Intensidad total.....	71		
Intensidades.....	71		
Introducción			
de la cubeta.....	42		
Inyectores.....	15		
L			
Lámpara flash.....	25		
Lecturas múltiples por pocillo.....	73		
Luminiscencia.....	21		
Luminiscencia del sistema óptico.....	37		
Luminiscencia flash.....	22		
Luminiscencia tipo glow.....	112		
M			
Mantenimiento.....	141		
Material de embalaje			
Devolución.....	147		
Eliminación.....	147		
Mediciones cinéticas.....	51		
Microplacas			
Tipos recomendados de.....	117		
Modo de administración.....	88		
Modo de relación.....	65		
Monitor flash.....	26		
Monocromador.....	25		
O			
Óptica de absorbancia.....	35		
Óptica de absorbancia en la cubeta.....	40		
Óptica de fluorescencia parte inferior.....	32		
Óptica de luminiscencia.....	37		
OVER.....	60		

P

Parámetros de sincronización	65
Polarización	71
Polarización de fluorescencia	67
Precisión	
Fluorescencia parte inferior	131
Fluorescencia parte superior	128
Fluorescencia resuelta en el tiempo	133
Polarización de fluorescencia	134
Propiedades del PMT	60
Puerto para cubetas	39
Puerto para cubetas del sistema óptico	40

R

Rango de medición del blanco	67
Rango de tensiones.....	46
Reducción del blanco	67, 71
Representación de resultados de MRW.....	76
Requerimientos de energía eléctrica.....	46
Rueda de filtros del PMT	28

S

Seguridad	9
Sensibilidad	
Fluorescencia parte inferior	129
Fluorescencia parte superior	125
Fluorescencia resuelta en el tiempo	132
Luminiscencia glow.....	136
Sistema de absorbancia	33

Sistema de fuente de luz	30
Sistema de lentes para la intensidad de fluorescencia.....	27
Sistema de luminiscencia.....	37
Sistema óptico	23
Sistema óptico de fluorescencia, parte inferior.....	24
Sistema óptico de fluorescencia, parte superior.....	23
Sobre la marcha	114

T

Tamaño del MRW.....	74
Tamaño del punto de excitación	27
Técnicas de medida	19
Tiempo de asentamiento.....	65
Tiempo de cambio de filtro	65
Tiempo de cambio de la longitud de onda	65
Tiempo de integración.....	77
Tipo de MRW.....	73
Tipos de cubetas	41
Transmisión de energía de resonancia fluorescente (FRET)	20

U

Unidad de detección de la luminiscencia	37
Uniformidad	
Fluorescencia parte inferior	130
Fluorescencia parte superior	126

Atención al Cliente Tecan

Si tiene cualquier pregunta o necesita soporte técnico para su producto Tecan, póngase en contacto con su organización local de Servicio de Atención al Cliente de Tecan. Acceda a <http://www.tecan.com/> para obtener información de contacto.

Antes de ponerse en contacto con Tecan para solicitar soporte técnico, prepare la siguiente información para que podamos ayudarle mejor (tome estos datos de la placa de identificación):

- Nombre del modelo de su producto
- Número de serie (SN) de su producto
- Software y versión del software (cuando corresponda)
- Descripción del problema y persona de contacto
- Fecha y hora cuando se produjo el problema
- Pasos que ya ha dado para corregir el problema
- Su información de contacto (números de teléfono y fax, dirección de correo electrónico, 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.