



Manual de Instruções da

Gama de leitores Infinite 200 PRO

Infinite M Nano

Infinite Lumi

Infinite M Nano+

Infinite M Plex

Infinite F Nano+

Infinite F Plex



Documento N.º: 30218663

2022-07

Revisão do Documento N.º: 1.4



30218663 00



AVISO

LEIA E SIGA ATENTAMENTE AS INSTRUÇÕES CONSTANTES NESTE DOCUMENTO ANTES DE OPERAR O INSTRUMENTO.

Nota

Foram feitos os maiores esforços para evitar erros no texto e nos diagramas. No entanto, a Tecan Austria GmbH não assume qualquer responsabilidade por quaisquer erros que possam surgir neste manual.

É política da Tecan Austria GmbH melhorar os produtos sempre que estejam disponíveis novas técnicas e novos componentes. Por esta razão, a Tecan Austria GmbH reserva-se o direito de alterar as especificações a qualquer momento, com a verificação, validação e aprovações adequadas.

Agradecemos quaisquer comentários sobre este manual.



Fabricante

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

Informação sobre a propriedade intelectual

O conteúdo deste documento é propriedade da Tecan Austria GmbH e não poderá ser copiado, reproduzido ou transferido a terceiros sem autorização prévia por escrito.

Copyright © Tecan Austria GmbH
Todos os direitos reservados.
Impresso na Áustria

Declaração para o Certificado UE

Consulte a última página do presente Manual de Instruções.

Sobre o Manual de Instruções

Manual original. Este documento descreve os leitores multifunções de microplacas da gama de leitores 200 PRO. Serve de referência e dá instruções ao utilizador. Este documento descreve como:

- Instalar o instrumento
- Operar o instrumento
- Limpar e fazer a manutenção do instrumento

Notas sobre os ecrãs

O número de versão apresentado nos ecrãs poderá nem sempre corresponder à versão atual. Os ecrãs só são substituídos se o conteúdo relacionado com a aplicação tiver sido alterado.

Marcas comerciais

Os seguintes nomes de produtos e todas as marcas comerciais, quer sejam ou não registadas, mencionadas neste documento são usadas apenas para fins de identificação e continuam a ser propriedade exclusiva dos respetivos proprietários:

- Infinite®, i-control™, magellan™, NanoQuant Plate™, Tecan® e o logótipo da Tecan são marcas registadas da Tecan Group Ltd., Männedorf, Suíça
- Windows® e Excel® são marcas registadas da Microsoft Corporation, Redmond, WA, EUA
- ChromaGlo™ Dual-Luciferase®, Enliten® e NanoBRET™ são marcas registadas da Promega Corporation Madison, WI, EUA
- Starna® é uma marca registada da Starna Scientific Limited, 52-54 Fowler Road, Hainault, Essex IG6 3UT Inglaterra, Reino Unido
- BRET2™, DeepBlueC® e PerkinElmer® são marcas registadas da PerkinElmer, Inc., Waltham, Massachusetts, EUA

Avisos, Precauções e Notas

Existem três tipos de indicações neste documento. Estas indicações chamam a atenção para informações importantes ou avisam o utilizador de uma situação de possível perigo.



Nota
Oferece informação útil.



PRECAUÇÃO
INDICA A POSSIBILIDADE DE DANOS NO INSTRUMENTO OU PERDA DE DADOS CASO AS INSTRUÇÕES NÃO SEJAM SEGUIDAS.



AVISO
INDICA A POSSIBILIDADE DE LESÕES PESSOAIS GRAVES, MORTE OU DANOS NO EQUIPAMENTO CASO AS INSTRUÇÕES NÃO SEJAM SEGUIDAS.



AVISO
ESTE SÍMBOLO INDICA A POSSIBILIDADE DE EXISTÊNCIA DE MATERIAL BIOLÓGICAMENTE PERIGOSO. É NECESSÁRIO CUMPRIR DEVIDAMENTE AS PRECAUÇÕES DE SEGURANÇA NO LABORATÓRIO.



AVISO
ESTE SÍMBOLO INDICA A POSSIBILIDADE DE EXISTÊNCIA DE MATERIAL INFLAMÁVEL E RISCO DE INCÊNDIO. É NECESSÁRIO CUMPRIR DEVIDAMENTE AS PRECAUÇÕES DE SEGURANÇA NO LABORATÓRIO.








**ATENÇÃO****IMPACTOS AMBIENTAIS NEGATIVOS ASSOCIADOS AO TRATAMENTO DE RESÍDUOS.**

- NÃO TRATE O EQUIPAMENTO ELÉTRICO E ELETRÔNICO COMO RESÍDUOS URBANOS INDIFERENCIADOS.
- SEPRE OS RESÍDUOS DE EQUIPAMENTOS ELÉTRICOS E ELETRÔNICOS.

**APENAS PARA RESIDENTES DA CALIFÓRNIA:****AVISO**

**ESTE PRODUTO PODE EXPÔ-LO A QUÍMICOS, TAIS COMO O CHUMBO, QUE, NO ESTADO DA CALIFÓRNIA, É CONSIDERADO COMO CANCERÍGENO E CONHECIDO POR CAUSAR DEFEITOS CONGÊNITOS OU OUTROS DANOS REPRODUTIVOS. PODERÁ ENCONTRAR MAIS INFORMAÇÕES EM:
WWW.P65WARNINGS.CA.GOV/PRODUCT.**

Símbolos

	Fabricante
	Data de fabrico
	Conformidade Europeia CE
	United Kingdom Conformity Assessed A marcação UKCA (conformidade avaliada no Reino Unido) indica que o respetivo produto cumpre as normas aplicáveis na Grã-Bretanha.
	Consultar o Manual de Instruções
	Número do catálogo
	Número de série
	Unique Device Identification (identificação única do dispositivo) O símbolo UDI identifica o suporte de dados na etiqueta.
	Autocolante USB
	Símbolo REEE
	Símbolo RoHS China
	MARCA TÜV SÜD

Índice

1.	Segurança	9
1.1	Segurança do instrumento	9
2.	Descrição geral	11
2.1	Instrumento	11
2.1.1	Âmbito de utilização	11
2.1.2	Multifuncionalidade.....	12
2.1.3	Volumes de enchimento	13
2.1.4	Desempenho.....	13
2.1.5	Facilidade de utilização	13
2.1.6	Botão de comando integrado	14
2.1.7	Vista traseira	15
2.2	Software	16
2.3	Injetores (opcional).....	16
2.3.1	Modos de medição dos injetores.....	16
2.3.2	Diagrama do módulo de injetores.....	17
2.3.3	Opções da bomba de injeção.....	17
2.3.4	Frascos de armazenamento e porta-frascos	17
2.3.5	Transportador de injetor	18
2.4	Técnicas de medição	20
2.4.1	Fluorescência	20
2.4.2	Absorvância.....	22
2.4.3	Luminescência	22
2.5	Sistema ótico.....	24
2.5.1	Sistema de intensidade de fluorescência (configurações M do Infinite)	24
2.5.2	Sistema de intensidade de fluorescência (configurações F do Infinite)	29
2.5.3	Sistema de polarização de fluorescência (apenas Infinite F Plex)	33
2.5.4	Sistema de absorvância (configurações F do Infinite)	34
2.5.5	Sistema de absorvância (configurações M do Infinite)	35
2.5.6	Sistema de luminescência.....	38
2.5.7	Porta de tina (configurações M do Infinite).....	40
3.	Instalação	45
3.1	Desembalar e verificar	45
3.1.1	Procedimento de desembalamento	45
3.2	Remoção dos bloqueios para transporte	47
3.3	Transporte e armazenamento.....	48
3.3.1	Transporte	48
3.3.2	Armazenamento	48
3.4	Requisitos de energia	48
3.5	Ligar o instrumento	49
4.	Operar o instrumento	51
4.1	Introdução	51
4.2	Características operacionais gerais.....	52
4.2.1	Arranque do instrumento	52
4.3	Opções gerais	52
4.4	Definição de tabuleiros dos filtros (configurações F do Infinite)	54
4.4.1	Acerca dos filtros.....	54
4.4.2	Tabuleiro do filtro e orientação do filtro	54
4.4.3	Instalação de um filtro personalizado	56
4.4.4	Definição dos filtros	58

4.5	Otimização de medições de fluorescência	62
4.5.1	Parâmetros do instrumento.....	62
4.5.2	Otimização Z (medições FI do topo apenas com configurações M do Infinite).....	63
4.5.3	Modo de relação FI.....	67
4.6	Medições FP	68
4.6.1	Polarização de fluorescência	68
4.6.2	Gama de branco da medição.....	68
4.6.3	Definições de fator G	68
4.6.4	Medição com um fator G não calibrado	69
4.6.5	Medição com uma calibração simultânea do fator G	69
4.6.6	Medição com um fator G calibrado	70
4.6.7	Medição com um fator G manual.....	71
4.6.8	Cálculo de parâmetros de polarização de fluorescência	72
4.7	Otimização de medições de absorvância	73
4.7.1	Parâmetros de medição.....	73
4.7.2	Modo de relação de absorvância.....	73
4.8	Leituras múltiplas por poço.....	74
4.8.1	Tipo MRW.....	74
4.8.2	Tamanho MRW.....	75
4.8.3	Borda MRW	76
4.8.4	Visualização de resultados no MS Excel	77
4.8.5	Diversas funções do software de MRW	77
4.9	Otimização de medições de luminescência.....	78
4.9.1	Tempo de integração.....	78
4.9.2	Atenuação do nível de luminosidade	78
4.10	Medições com injetores	79
4.10.1	Expurgação e lavagem do leitor Infinite.....	79
4.10.2	Lavagem.....	83
4.10.3	Antes de iniciar uma medição com injetores.....	86
4.10.4	Modos com injetor (i-control)	86
4.11	Medições de branco.....	91
4.12	Medições de tina	92
4.12.1	Tira de tina.....	92
4.12.2	Movimentos da tina.....	92
4.12.3	Exemplos de tina com i-control.....	92
4.13	Exemplos i-control	98
4.14	Terminar uma sessão de medição	102
4.14.1	Desconexão do instrumento	102
4.14.2	Paragem do instrumento	102
5.	Funções do instrumento	103
5.1	Introdução	103
5.2	Especificações do instrumento	104
5.3	Intensidade de fluorescência e fluorescência resolvida no tempo (TRF).....	106
5.3.1	Definição do limite de deteção.....	106
5.3.2	Fluoresceína (intensidade de fluorescência) Topo	106
5.3.3	Fluoresceína (intensidade de fluorescência) Fundo	107
5.3.4	Európio (fluorescência resolvida no tempo).....	107
5.4	Polarização de fluorescência (FP) - apenas Infinite F Plex.....	108
5.5	Absorvância	109
5.6	Luminescência do tipo Glow.....	110
5.6.1	Luminescência Glow ATP.....	110
5.7	Luminescência do tipo Flash	111

5.8	Luminescência bicolor (p. ex., BRET).....	111
5.9	Medições “na hora”	112
5.10	Funções de tina (apenas configurações M do Infinite).....	112
5.10.1	Especificações da tina.....	112
5.11	Especificações do injetor	113
5.11.1	Compatibilidade com reagentes do injetor	113
5.12	Acessórios de medição	115
5.12.1	Filtros recomendados (apenas configurações F do Infinite).....	115
5.12.2	Tipos recomendados de microplacas.....	115
5.12.3	Deteção de luminescência	119
6.	Controlo de qualidade.....	121
6.1	Testes periódicos de controlo de qualidade	121
6.2	Especificações - Critérios de aceitação/falha	122
6.3	Especificações - Instruções de teste	123
6.3.1	Fluorescência do topo	123
6.3.2	Fluorescência do fundo	127
6.3.3	Fluorescência resolvida no tempo.....	130
6.3.4	Polarização de fluorescência (apenas Infinite F Plex).....	132
6.3.5	Luminescência Glow	133
6.3.6	Exatidão de absorvância	134
6.3.7	Exatidão do comprimento de onda de absorvância.....	135
6.3.8	Planidade de base de absorvância (configurações M do Infinite)	135
6.3.9	Planidade de base de absorvância (configurações F do Infinite)	136
6.3.10	Tina de absorvância (apenas configurações M do Infinite)	137
7.	Limpeza e manutenção	139
7.1	Introdução	139
7.2	Derrames de líquido.....	140
7.3	Limpeza e manutenção do injetor.....	141
7.3.1	Manutenção diária.....	141
7.3.2	Manutenção semanal/periódica.....	141
7.4	Desinfecção do instrumento	143
7.4.1	Soluções de desinfecção	143
7.4.2	Procedimento de desinfecção.....	143
7.4.3	Certificado de segurança.....	144
7.4.4	Eliminação.....	144
7.4.5	Eliminação do material de embalagem.....	145
7.4.6	Eliminação do material de serviço.....	145
7.4.7	Eliminação do instrumento	145
8.	Resolução de problemas	147
	Índice alfabético.....	151
	Centros de assistência da Tecan	153

1. Segurança

1.1 Segurança do instrumento

1. Siga sempre as precauções de segurança básica quando utilizar este produto, para reduzir o risco de lesões, incêndio ou choques elétricos.
2. Leia e compreenda toda a informação contida neste Manual de Instruções. O facto de não ler, compreender ou não seguir as instruções deste documento pode resultar em danos no produto, lesões do pessoal de operação ou no fraco desempenho do instrumento.
3. Respeite todos os AVISOS e todas as indicações de PRECAUÇÃO constantes neste documento.
4. Nunca abra a carcaça do Infinite 200 PRO enquanto o instrumento estiver ligado à fonte de alimentação.
5. Nunca introduza à força uma microplaca no instrumento.
6. O Infinite 200 PRO foi concebido para uso profissional enquanto instrumento de laboratório de uso geral. Cumpra as devidas precauções de segurança no laboratório, tais como a utilização de vestuário de proteção e o cumprimento dos processos aprovados de segurança no laboratório.

PRECAUÇÃO

A TECAN AUSTRIA GMBH TEVE ESPECIAL CUIDADOS NA CRIAÇÃO DOS FICHEIROS DE DEFINIÇÃO DE PLACAS FORNECIDOS COM O SOFTWARE DO INSTRUMENTO.

TOMAMOS TODAS AS PRECAUÇÕES PARA GARANTIR QUE AS ALTURAS E PROFUNDIDADES DAS PLACAS ESTÃO CORRETAS DE ACORDO COM O TIPO DE PLACA DEFINIDO. ESTE PARÂMETRO É USADO PARA DETERMINAR A DISTÂNCIA MÍNIMA ENTRE O TOPO DA PLACA E O TETO DA CÂMARA DE MEDIÇÃO. ADICIONALMENTE, A TECAN AUSTRIA INCLUIU UM DIFERENCIAL DE SEGURANÇA MUITO PEQUENO PARA PREVENIR QUAISQUER DANOS NA CÂMARA DE MEDIÇÃO RESULTANTES DE PEQUENAS VARIAÇÕES DA ALTURA DA PLACA. TAL NÃO AFETA O DESEMPENHO DO INSTRUMENTO. OS UTILIZADORES TÊM DE GARANTIR QUE O FICHEIRO DE DEFINIÇÃO DA PLACA SELECIONADO CORRESPONDE À PLACA ATUALMENTE UTILIZADA.

ALÉM DISSO, OS UTILIZADORES DEVEM ASSEGURAR QUE NÃO EXISTE QUALQUER CONTAMINAÇÃO FLUORESCENTE OU LUMINESCENTE NO TOPO DA PLACA. LEMBRE-SE DE QUE ALGUNS VEDANTES DA PLACA DEIXAM RESÍDUOS PEGAJOSOS QUE TÊM DE SER TOTALMENTE REMOVIDOS ANTES DE SE INICIAR AS MEDIÇÕES.



PRECAUÇÃO

ANTES DE INICIAR MEDIÇÕES, CERTIFIQUE-SE DE QUE A POSIÇÃO A1 DA MICROPLACA ESTÁ INSERIDA CORRETAMENTE. A POSIÇÃO DO POÇO A1 TEM DE SE SITUAR NO LADO ESQUERDO SUPERIOR.



**PRECAUÇÃO**

PARA GARANTIR O FUNCIONAMENTO PERFEITO DOS INSTRUMENTOS TECAN, RECOMENDAMOS UM INTERVALO DE MANUTENÇÃO DE 6 MESES.

Parte-se do princípio de que os operadores do instrumento, devido à sua experiência profissional, estão familiarizados com as precauções de segurança relacionadas com o manuseamento de químicos e substâncias biologicamente perigosas.

Cumpra as seguintes normas e siga os seguintes conselhos:

1. Norma nacional de proteção industrial
2. Normas de prevenção de acidentes
3. Folhas de dados de segurança dos fabricantes de reagentes

**AVISO**

DEPENDENDO DA APLICAÇÃO, ALGUMAS PARTES DO INSTRUMENTO PODERÃO ENTRAR EM CONTACTO COM MATERIAIS BIOLÓGICAMENTE PERIGOSOS/INFECIOSOS. CERTIFIQUE-SE DE QUE O INSTRUMENTO É OPERADO APENAS POR PESSOAL QUALIFICADO. EM CASO DE MANUTENÇÃO OU QUANDO PROCEDER À DESLOCAÇÃO OU ELIMINAÇÃO DO INSTRUMENTO, DESINFETE-O SEMPRE DE ACORDO COM AS INSTRUÇÕES FORNECIDAS NESTE MANUAL.

2. Descrição geral

2.1 Instrumento

O Tecan Infinite 200 PRO é um leitor multifunções de microplacas concebido para o mercado básico das ciências vivas. O Infinite 200 PRO fornece excelentes desempenhos para a pesquisa e a grande maioria das aplicações de microplacas atuais, e é compatível com a robótica.

Com base no conceito tecnológico do comprovado leitor Infinite, estão disponíveis seis configurações dentro da gama de leitores Infinite 200. Segue-se um resumo das seis configurações, bem como as respetivas funções e opções:

Funções	Configurações com monocromador (M)				Configurações com filtro (F)	
	M Nano	M Nano+	Lumi	M Plex	F Nano+	F Plex
Absorvância - monocromador	x	x		x		
Absorvância - filtro					x	x
Fluorescência - monocromador		x		x		
Fluorescência - filtro					x	x
Fluorescência - leitura do topo		x		x	x	x
Fluorescência - leitura do fundo		x		x	x	x
Polarização de fluorescência - filtro						x
Luminescência			x	x		x
Opções						
1 injetor	x	x	x	x	x	x
2 injetores	x	x	x	x	x	x
Tina	x	x		x		
Placa NanoQuant	x	x		x	x	x

2.1.1 Âmbito de utilização

O Infinite 200 PRO foi concebido para uso profissional enquanto instrumento de laboratório de uso geral, suportando microplacas comuns de 6 a 384 poços em conformidade com as normas ANSI/SBS (consulte 5.12.2 Tipos recomendados de microplacas para mais detalhes).

**Nota**

É obrigatória a aprovação do sistema pela autoridade de funcionamento. O Infinite 200 PRO foi aprovado apenas para um conjunto selecionado de ensaios. A autoridade de funcionamento tem o dever de garantir a aprovação do Infinite 200 PRO para cada ensaio específico usado no instrumento.

2.1.2 Multifuncionalidade

As seguintes técnicas de medição são suportadas pelo leitor Infinite, em função da configuração selecionada do leitor:

- Intensidade de fluorescência (FI) do topo
- Intensidade de fluorescência (FI) do fundo
- Fluorescência resolvida no tempo (TRF)
- Transferência de energia de fluorescência por ressonância (FRET)
- Fluorescência Flash (com injetores)
- Polarização de fluorescência (FP)
- Absorvância
- Absorvância (com injetores)
- Absorvância em tinas
- Luminescência Glow
- Luminescência Flash
- Transferência de energia de bioluminescência por ressonância (BRET)

Qualquer microplaca convencional de 6 a 384 poços que esteja em conformidade com as normas ANSI/SBS (ANSI/SBS 1- 2004; ANSI/SBS 2- 2004, ANSI/SBS 3- 2004 e ANSI/SBS 4- 2004) pode ser medida com qualquer uma das técnicas de medição supra indicadas. A comutação entre as técnicas de medição ou os formatos de placa é totalmente automática através de um software. Não é necessário reconfigurar manualmente as óticas para comutar entre os modos de leitura suportados pelo leitor Infinite.

2.1.3 Volumes de enchimento



PRECAUÇÃO

AS SEGUINTE MICROPLACAS SÓ PODEM SER PROCESSADAS COM OS SEGUINTE VOLUMES DE ENCHIMENTO:

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

VOLUMES DE ENCHIMENTO MAIORES PODEM RESULTAR NO TRANSBORDAMENTO DE LÍQUIDOS, CAUSANDO CONTAMINAÇÃO CRUZADA. ADICIONALMENTE, UM TRANSBORDAMENTO PODE DANIFICAR O DISPOSITIVO (P. EX., CONTAMINAÇÃO DAS ÓTICAS E DO GRAMPO DE CENTRAGEM).

SE O VOLUME DE TRABALHO NO FICHEIRO DE DEFINIÇÃO DA PLACA (PDFX) FOR INFERIOR AOS VOLUMES DEFINIDOS ACIMA, É NECESSÁRIO USAR OS VOLUMES DE ENCHIMENTO MAIS PEQUENOS PARA EVITAR DERRAMES (P. EX., AS PLACAS DE 384 POÇOS DA CORNING POSSUEM UM VOLUME DE TRABALHO DE APENAS 80 µL).

PARA FLUIDOS COM UMA VISCOSIDADE MAIS BAIXA DO QUE SOLUÇÕES AQUOSAS, O VOLUME DE ENCHIMENTO DEVE SER ADICIONALMENTE OTIMIZADO DURANTE A VALIDAÇÃO DO MÉTODO.

2.1.4 Desempenho

O leitor Infinite foi concebido para cumprir os requisitos de um instrumento de laboratório de uso geral.

O leitor Infinite fornece um conjunto de parâmetros para otimizar os resultados de medição de acordo com: a configuração específica, o tipo de ensaio (baseado em células ou homogêneo), o tipo de microplaca, bem como os volumes de distribuição por poço e as velocidades de distribuição.

2.1.5 Facilidade de utilização

Os leitores Infinite dotados de configurações com monocromador oferecem uma flexibilidade inigualável na seleção do comprimento de onda para as medições da intensidade de fluorescência e absorvância. O software permite ajustar facilmente qualquer comprimento de onda dentro da gama de comprimento de onda especificada. Além das medições de comprimento de onda únicas, é possível registrar espectros de absorvância e fluorescência. Durante a execução de um espectro, não existe qualquer restrição devido a filtros de corte.

Os leitores Infinite dotados de configurações com filtro oferecem uma grande flexibilidade para a personalização das medições de fluorescência e absorvância; os tabuleiros com filtros de interferência de absorvância e fluorescência são facilmente acessíveis para o utilizador.



Nota

Se as instruções constantes deste documento não forem corretamente seguidas, o instrumento pode danificar-se ou os procedimentos podem não ser efetuados corretamente, não sendo possível garantir a segurança do instrumento.

2.1.6 Botão de comando integrado

O leitor Infinite possui um botão de comando integrado para controlar os movimentos da placa sem ter de estar ligado ao software. Ao premir o botão **Plate In/Out** (Placa dentro/Placa fora), a posição atual do transportador de placas é automaticamente reconhecida e a placa é movida para dentro ou para fora do instrumento.

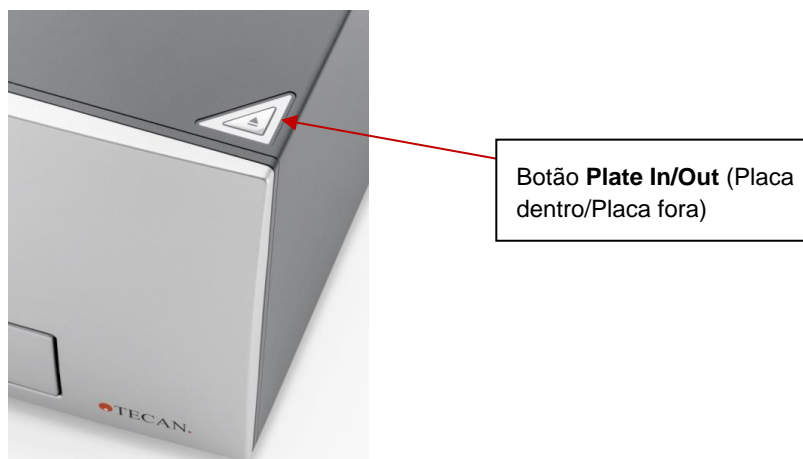


Figura 1: Botão integrado do leitor Infinite. O botão **Plate In/Out** (Placa dentro/Placa fora) encontra-se no canto dianteiro direito da tampa superior.

2.1.7 Vista traseira

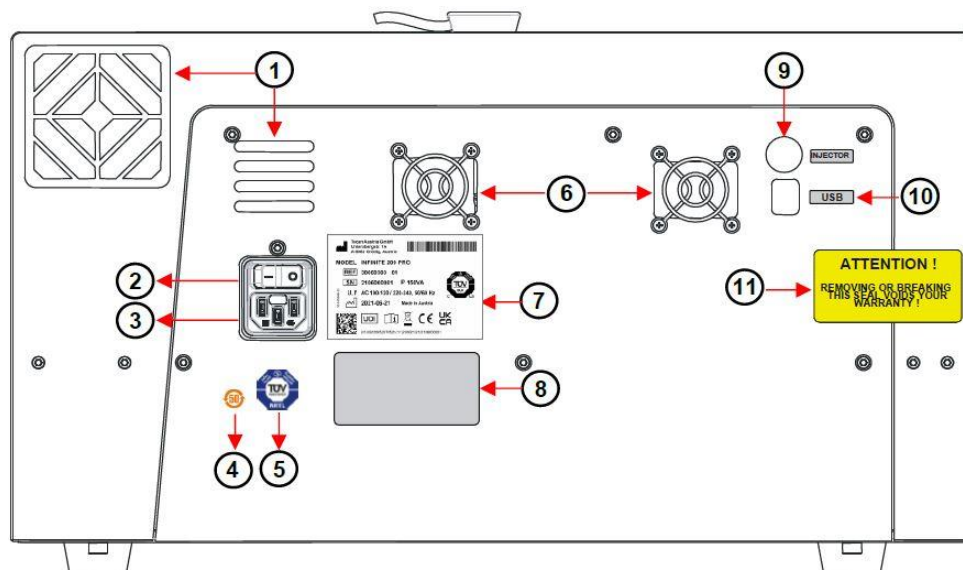


Figura 2: Painel traseiro

1	Ventoinha do instrumento	
2	Interruptor principal	
3	Tomada principal	
4	Etiqueta – Símbolo RoHS China	
5	Etiqueta – Entidade de inspeção técnica (TÜV)	
6	Ventoinha da fonte de alimentação	
7	Placa de nome	
8	Etiqueta – Opções/configuração	
9	Ligação do injetor	
10	Ligação USB	
11	Etiqueta de garantia	<p style="text-align: center;">ATENÇÃO A REMOÇÃO OU QUEBRA DESTE SELO ANULA O DIREITO A GARANTIA!</p>



PRECAUÇÃO

O INSTRUMENTO SÓ PODE SER ABERTO POR TÉCNICOS DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA AUTORIZADOS PELA TECAN. A REMOÇÃO OU QUEBRA DO SELO DE GARANTIA ANULA O DIREITO A GARANTIA.

2.2 Software

O leitor Infinite é fornecido com o software **i-control** para a operação do instrumento e inclui um ficheiro de ajuda, bem como o Manual de Instruções impresso. O software está formatado como um arquivo auto-extraível no suporte de armazenamento do software. (Para obter informações acerca dos requisitos do sistema, consulte o Manual de Instruções do software **i-control**. Encontrará o Manual de Instruções do software **i-control** no suporte de armazenamento do software.)

Para a redução avançada de dados, pode utilizar-se o software **Magellan** para controlar o leitor Infinite. O Magellan oferece todas as funcionalidades para estar em conformidade com a norma FDA 21 CFR parte 11 para registos e assinaturas eletrónicos (para mais informações, contacte o seu representante local da Tecan).

2.3 Injetores (opcional)

O leitor Infinite pode ser, opcionalmente, equipado com um módulo de injetores composto por uma ou duas bombas de seringa (XE-1000, Tecan Systems) localizadas numa caixa separada, que alimentam uma ou duas agulhas de injetor.

As agulhas de injetor foram concebidas para injetar líquido em qualquer microplaca de poço conforme a norma SBS, na qual o tamanho do poço é igual ou superior a uma placa de 384 poços SBS padrão.



Figura 3: Caixa de injetor com porta-frascos

2.3.1 Modos de medição dos injetores

Os injetores do leitor Infinite podem ser usados com os seguintes modos de medição:

- Intensidade de fluorescência do topo e do fundo
- Fluorescência resolvida no tempo
- Absorvância
- Luminescência Flash
- Luminescência Glow
- Luminescência bicolor

Como a posição de medição não é a mesma que a posição do injetor, ocorre um curto atraso (aprox. < 0,5 s) entre a injeção e a leitura.

Para mais detalhes acerca da configuração de uma medição com injetores, consulte o capítulo 4.10.4 Modos com injetor (i-control).

2.3.2 Diagrama do módulo de injetores

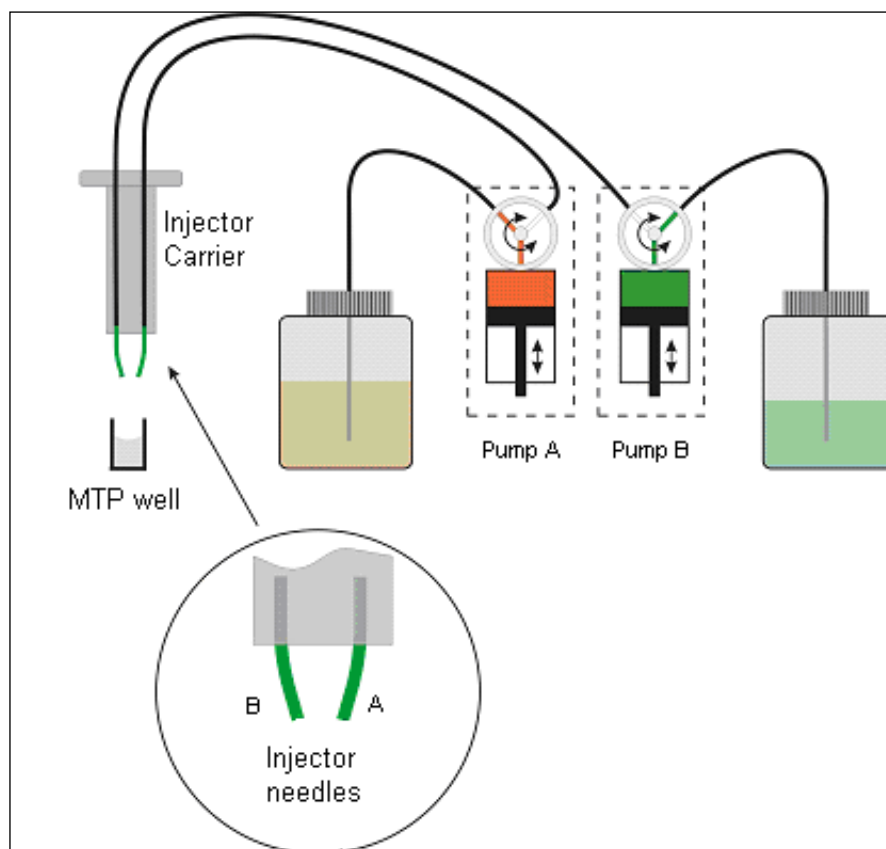


Figura 4: Vista esquemática do módulo de injetores

2.3.3 Opções da bomba de injeção

Estão disponíveis até duas bombas para o leitor Infinite (ver Figura 4 acima):

- A bomba A alimenta a agulha do injetor A
- A bomba B alimenta a agulha do injetor B

O leitor Infinite pode ser equipado com uma bomba (bomba A) ou duas bombas (bombas A e B):

- **Opção de um injetor (uma bomba):** Um leitor Infinite equipado com uma bomba permite injeções em qualquer microplaca de poço conforme a norma SBS, na qual o tamanho do poço é igual ou superior a uma placa de 384 poços SBS padrão.
- **Opção de dois injetores (duas bombas):** Algumas aplicações, como reações de luminescência Flash ou ensaios de genes repórteres duplos, requerem a injeção de dois líquidos independentes no mesmo poço; por isso, a Tecan dispõe de uma opção de dois injetores.

2.3.4 Frascos de armazenamento e porta-frascos

Na caixa de injetor, cabem no máximo dois frascos de 125 ml.

O conjunto de frascos standard fornecido com a opção de injetor é composto por:

- Um frasco de 125 ml e um frasco de 15 ml para a **Opção de um injetor** (uma bomba) ou
- Um frasco de 125 ml e dois frascos de 15 ml para a **Opção de dois injetores** (duas bombas).

A opção de injetor inclui até dois porta-frascos concebidos para tubos de diferentes tamanhos e volumes. Os frascos e tubos que contenham fluidos a injetar podem ser fixados de forma segura ao porta-frascos com ajuda de ganchos flexíveis de PVC. Os tubos da seringa de injetor podem ser inseridos numa agulha de carbono que chegue até ao fundo do frasco, de modo a garantir a aspiração perfeita, mesmo de pequenos volumes de fluido.



Figura 5: Porta-frascos

2.3.5 Transportador de injetor

O transportador de injetor, que inclui as agulhas de injetor, pode ser facilmente removido do instrumento para expurgar ou lavar o sistema e para otimizar a velocidade de injeção.



Figura 6: Transportador de injetor

Ao utilizar o injetor durante uma medição ou simplesmente para a distribuição de uma placa, o transportador de injetor tem de ser inserido corretamente no instrumento. Remova o injetor fictício e insira o transportador na porta do injetor. Empurre ligeiramente o transportador para dentro da porta do injetor, até ouvir um clique.

O instrumento possui um sensor de injetor que verifica se a posição do transportador de injetor está correta para as ações **injetar** e **distribuir**.

Se o transportador de injetor não estiver inserido corretamente, o sensor de injetor não reconhece o transportador inserido e não é possível efetuar a distribuição nem a injeção.

Por outro lado, as ações como a lavagem e a expurgação estão ativadas, mesmo com o transportador de injetor inserido; por isso, certifique-se sempre de que o transportador de injetor se encontra na posição de serviço para a lavagem e a expurgação.

Todos os instrumentos fornecidos estão equipados com uma opção pronta para receber um injetor no local.



PRECAUÇÃO

O TRANSPORTADOR DE INJETOR TEM DE ESTAR NA POSIÇÃO DE SERVIÇO PARA A LAVAGEM E EXPURGAÇÃO. A EXPURGAÇÃO E A LAVAGEM NÃO PODEM SER EXECUTADAS COM O INJETOR DENTRO DO INSTRUMENTO!

Figura 7: Inserção do transportador de injetor na porta do injetor



CLICK



PRECAUÇÃO

SE O TRANSPORTADOR DE INJETOR NÃO ESTIVER INSERIDO CORRETAMENTE NA PORTA DO INJETOR, O SENSOR DE INJETOR NÃO DETETARÁ O INJETOR INSERIDO E, POR CONSEQUENTE, A LAVAGEM E A EXPURGAÇÃO SERÃO ATIVADAS, PODENDO DANIFICAR O INSTRUMENTO.

2.4 Técnicas de medição

As secções que se seguem apresentam uma introdução às técnicas de medição do leitor Infinite quando está totalmente equipado. Para sintetizar a informação, foram realizadas algumas simplificações. Para mais detalhes, consulte as referências.

2.4.1 Fluorescência

O leitor Infinite oferece a técnica básica de medição de fluorescência e algumas variantes ainda mais sofisticadas:

- Intensidade de fluorescência (FI) (ou simplesmente Fluorescência)
- Transferência de energia de fluorescência por ressonância (FRET)
- Fluorescência resolvida no tempo (TRF)
- Polarização de fluorescência (FP – apenas Infinite F Plex)

A intensidade de fluorescência (FI) também pode ser utilizada para medir a transferência de energia de fluorescência por ressonância (FRET). Para algumas aplicações de microplacas, a transferência de energia de fluorescência por ressonância (FRET) tem vantagens sobre a intensidade de fluorescência (FI) e a fluorescência resolvida no tempo (TRF), porque simplifica a preparação do ensaio. Ela aplica-se, de preferência, a estudos de ligação de **mistura e medição**. Em comparação com a polarização de fluorescência (FP), a transferência de energia de fluorescência por ressonância (FRET) requer ambos os parceiros de ligação para uma marcação correta. Por outro lado, a transferência de energia de fluorescência por ressonância (FRET) pode utilizar marcas de TRF para uma maior sensibilidade e depois ser referenciada como HTRF (TRF homogénea).

A fluorescência resolvida no tempo (TRF) não deve ser confundida com as medições do tempo de vida da fluorescência.

As moléculas fluorescentes emitem luz de um comprimento de onda específico quando são atingidas por luz de um comprimento de onda mais curto (deslocamento de cursos). Em particular, uma única molécula fluorescente pode resultar num fotão de fluorescência (quantum de luz). Esta é uma parte da energia anteriormente absorvida (excitação eletrónica), mas que não pôde ser libertada suficientemente rápido em energia térmica.

O tempo médio entre a excitação e a emissão chama-se tempo de vida da fluorescência. Para muitas espécies moleculares fluorescentes, o tempo de vida da fluorescência situa-se na ordem de nanossegundos (fluorescência imediata). Após a excitação, ocorre a emissão de fluorescência com uma determinada probabilidade (rendimento quântico) que depende das espécies fluorescentes e das respetivas condições ambientais.

Para uma apresentação detalhada das técnicas e aplicações de fluorescência, consulte:

Principles of Fluorescence Spectroscopy (Princípios da espectroscopia de fluorescência) de Joseph R. Lakowicz, Plenum Press.

A) Intensidade de fluorescência (FI)

Em muitas aplicações de microplacas, a intensidade da emissão de fluorescência é medida para determinar a abundância de compostos fluorescentes marcados. Nestes ensaios, outros fatores com influência sobre a emissão de fluorescência devem ser controlados a título experimental. A temperatura, o valor pH, o oxigénio dissolvido, o tipo de solvente, etc. podem afetar significativamente o rendimento quântico de fluorescência e, por conseguinte, os resultados de medição.

B) Transferência de energia de fluorescência por ressonância (FRET)

Algumas aplicações de microplacas utilizam uma estratégia sofisticada de marcação dupla. O efeito de FRET permite-lhe medir a quantidade de dois compostos marcados de forma diferente que se encontram nas proximidades. Isso faz com que seja adequado para estudos de ligação.

A transferência de energia de fluorescência por ressonância (FRET) é basicamente uma medição da intensidade de fluorescência de uma das duas marcas fluorescentes (aceitador). No entanto, o aceitador não é sensível ao comprimento de onda de excitação da fonte de luz utilizada. Em vez disso, o aceitador pode receber energia de excitação da outra marca fluorescente (doador), se ambos se encontrarem espacialmente próximos. Um pré-requisito é a aplicação do comprimento de onda de excitação ao doador. Além disso, o espectro de emissão do doador tem de se sobrepôr ao espectro de excitação do aceitador (condição de ressonância). Todavia, a transferência da energia de excitação do doador para o aceitador é livre de radiação.

Algumas aplicações baseadas em FRET utilizam pares adequados da família das proteínas fluorescentes, como GFP/YFP (proteína fluorescente verde/amarela, (ref. **Using GFP in FRET-based applications** (Usar GFP em aplicações baseadas em FRET) de Brian A. Pollok e Roger Heim – trends in Cell Biology [Vol.9] Fevereiro 1999). Está disponível uma visão geral no artigo de revisão – **Application of Fluorescence Resonance Energy Transfer in the Clinical Laboratory: Routine and Research** (Aplicação da transferência de energia de fluorescência por ressonância: rotina e investigação) de J. Szöllösi, et al. in Cytometry 34, página 159-179 (1998).

Outras aplicações baseadas em FRET tiram partido da utilização de marcas TRF como doador. Consulte, por exemplo, **High Throughput Screening** – Marcel Dekker Inc. 1997, New York, Basel, Hong Kong, section 19 Homogeneous, Time-Resolved Fluorescence Method for Drug Discovery de Alfred J. Kolb, et al.

C) Fluorescência resolvida no tempo (TRF)

A fluorescência resolvida no tempo (TRF) aplica-se a uma categoria de marcas fluorescentes (quelatos de lantanídeos como o európio, [ref. **Europium and Samarium in Time-Resolved Fluoroimmunoassays** (Európio e samário em fluoroimunoensaios por tempo resolvido) de T. Ståhlberg, et. al. - American Laboratory, Dezembro 1993 página 15]), algumas das quais têm tempos de vida de fluorescência superiores a 100 microssegundos. O leitor Infinite utiliza uma lâmpada de flash como fonte de luz, com uma duração de flash bastante inferior ao tempo de vida de fluorescência dessas espécies. Tal permite medir a emissão de fluorescência a um dado momento, quando a luz difusa e a fluorescência imediata já tiverem desaparecido (atraso). Assim, o fundo pode ser significativamente reduzido enquanto a sensibilidade é melhorada.

Os benefícios da fluorescência resolvida no tempo (TRF) aplicam-se, conseqüentemente, a várias marcas com diferentes tempos de vida de fluorescência.

D) Polarização de fluorescência (FP)

A polarização de fluorescência (FP) mede a mobilidade rotacional de um composto fluorescente marcado. Por conseguinte, a polarização de fluorescência (FP) é particularmente adequada a estudos de ligação, porque o movimento de cambalhota (mudança de direção) de pequenas moléculas pode ser fortemente abrandado após a ligação a uma molécula maior.

As medições de polarização de fluorescência são baseadas na deteção da despolarização da emissão de fluorescência após a excitação de uma molécula fluorescente por luz polarizada. Uma molécula fluorescente pode ser visualizada como uma antena. Uma molécula destas pode absorver energia se e apenas se a polarização da luz de excitação corresponder à orientação da antena. Durante

o tempo de vida de fluorescência, ou seja, o tempo em que a molécula permanece no estado excitado, as moléculas pequenas difundem-se por rotação de forma relativamente rápida. Consequentemente, reorientam-se antes de emitirem o seu fóton. Como resultado e devido ao caráter aleatório da difusão, uma luz de excitação polarizada linearmente é convertida numa luz de emissão menos polarizada. Assim, um valor mP elevado obtido representa a rotação lenta da molécula marcada, indicando que é provável que a ligação tenha ocorrido. Um valor mP baixo representa uma rotação rápida de uma molécula, indicando que é provável que a ligação não tenha ocorrido.

O resultado da medição FP é calculado a partir de duas medições da intensidade de fluorescência sucessivas. Elas diferem na orientação mútua de filtros polarizadores, um colocado atrás do filtro de excitação e outro à frente do filtro de emissão. Ao processar ambos os conjuntos de dados, é possível medir a extensão da alteração da orientação da marca fluorescente no intervalo de tempo entre a excitação e a emissão.

2.4.2 Absorvância

A absorvância é uma medida para a atenuação de luz monocromática quando esta é transmitida através de uma amostra. A absorvância é definida como:

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

Sendo que I_{AMOSTRA} é a intensidade da luz transmitida e I_0 a intensidade de luz não atenuada pela amostra. A unidade é designada por densidade ótica (OD)

Assim, 2,0 OD significa uma atenuação de $10^{2.0}$ ou multiplicada por 100 (1% de transmissão),

1,0 OD significa uma atenuação de $10^{1.0}$ ou multiplicada por 10 (10% de transmissão), e

0,1 OD significa uma atenuação de $10^{0.1}$ ou multiplicada por 1,26 (79,4% de transmissão).

Se a amostra contiver apenas uma única espécie absorvente nessa estreita banda de comprimentos de onda, a absorvância corrigida do fundo (A) é proporcional à concentração correspondente dessa espécie (lei de Lambert-Beer)

2.4.3 Luminescência

Quimioluminescência ou bioluminescência tipo Glow

O leitor Infinite fornece medições da quimioluminescência ou bioluminescência tipo Glow. O tipo Glow significa que o ensaio de luminescência brilha durante muito mais do que um minuto. Estão disponíveis substratos de luminescência que produzem uma luz suficientemente estável durante horas.

A luminescência pode, por exemplo, ser medida para determinar a atividade de um composto marcado por uma enzima (peroxidase, fosfatase). A emissão de luz resulta de um substrato de luminescência descomposto pela enzima. Em caso de excesso de substrato, pode assumir-se que o sinal de luminescência é proporcional à abundância do composto marcado por uma enzima. Como com ensaios enzimáticos, o controlo das condições ambientais é relativamente determinante (temperatura, valor pH).

Para os aspetos práticos de ensaios de luminescência, consulte o seguinte exemplo:

Bioluminescence Methods and Protocols (Métodos de bioluminescência e protocolos), ed. R.A. LaRossa, *Methods in Molecular Biology* 102, Humana Press, 1998

Transferência de energia de bioluminescência por ressonância (BRET)

A BRET é uma tecnologia de ensaio celular avançada, não destrutiva, que se adequa perfeitamente a aplicações proteômicas, incluindo a pesquisa de receptores e o mapeamento de caminhos de transdução de sinais. A BRET baseia-se na transferência de energia entre proteínas de fusão com *Renilla luciferase* (Rluc) e uma forma mutante da proteína fluorescente verde (GFP). O sinal BRET é gerado pela oxidação de p.a. DeepBlueC, um derivado da coelenterazina que maximiza a resolução espectral para uma sensibilidade otimizada. Esta tecnologia de ensaio homogênea oferece uma plataforma simples, robusta e versátil com aplicações tanto na investigação acadêmica fundamental como na investigação aplicada.

Luminescência Flash

Nos ensaios do tipo Flash, a medição só é efetuada durante a distribuição do reagente ativador ou após um curto atraso (para medições de luminescência Flash com o leitor Infinite, consulte também 2.3.1 Modos de medição dos injetores).

Ao longo dos últimos anos, os substratos de luminescência foram melhorados, passando a fornecer sinais mais estáveis. Nos ensaios de luminescência do tipo Glow, o sinal de luminescência estende-se ao longo de uma vasta escala de tempo (p. ex., uma meia-vida de 30 min.)

2.5 Sistema ótico

2.5.1 Sistema de intensidade de fluorescência (configurações M do Infinite)

O sistema ótico do sistema de fluorescência do topo e do fundo das configurações M do Infinite está esquematizado abaixo.

O sistema de é composto por:

- Sistema de fonte de luz
- Monocromador duplo de excitação
- Ótica de fluorescência do topo
- Monocromador duplo de emissão
- e detecção de fluorescência

As setas cheias indicam o caminho da luz de excitação; as setas tracejadas indicam o caminho da luz de emissão.

Para simplificar o sistema, não é mostrado o **Monitor de flash** (consultar a secção Monitor de flash, página 27). Cada unidade de monocromador, (2) e (4), é composta por duas grelhas; nas figuras abaixo, encontra-se uma vista esquemática mais detalhada.

Esquema da intensidade de fluorescência do topo

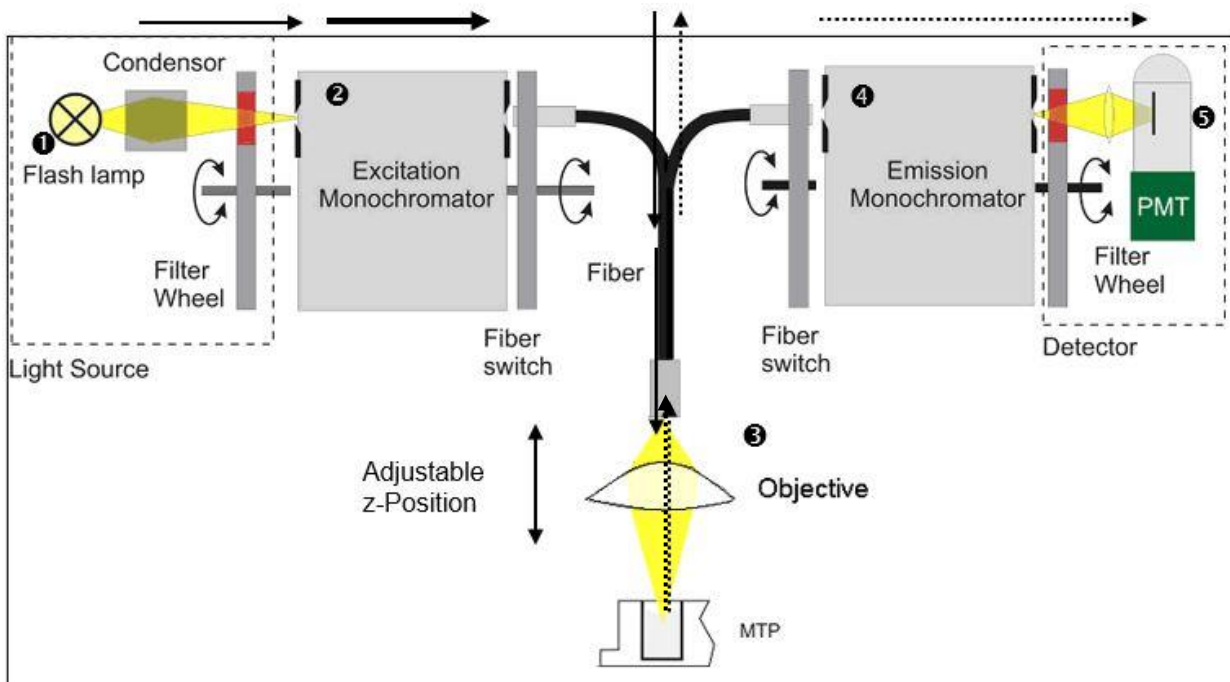


Figura 8: Sistema ótico do sistema de fluorescência do topo

Esquema da intensidade de fluorescência do fundo

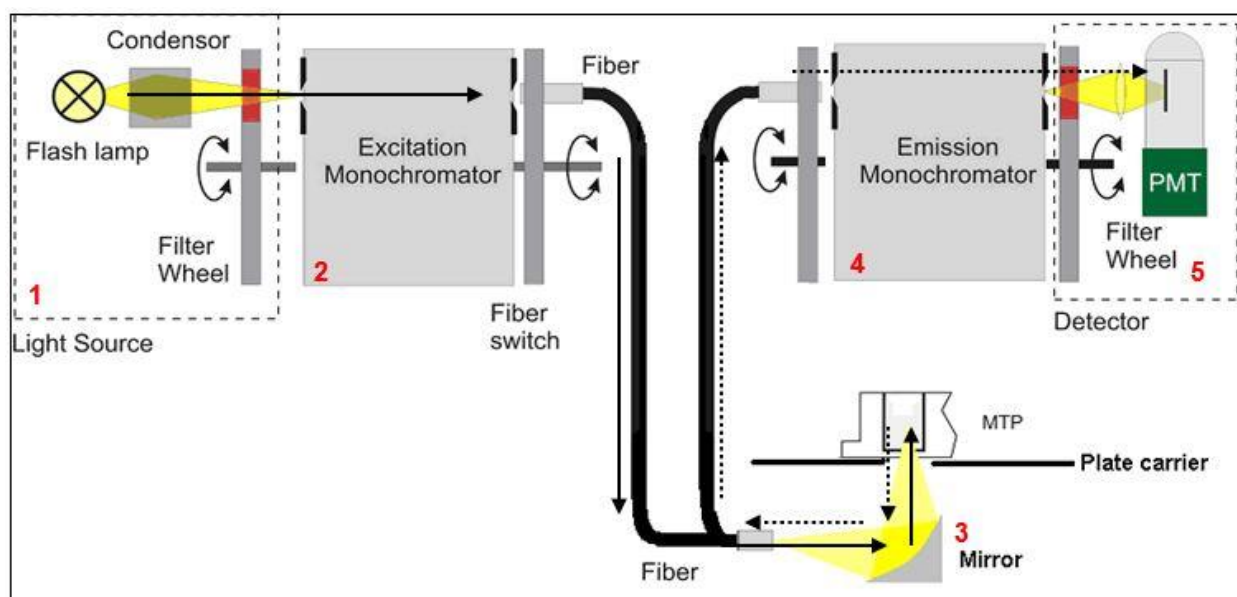


Figura 9: Sistema óptico do sistema de fluorescência do fundo

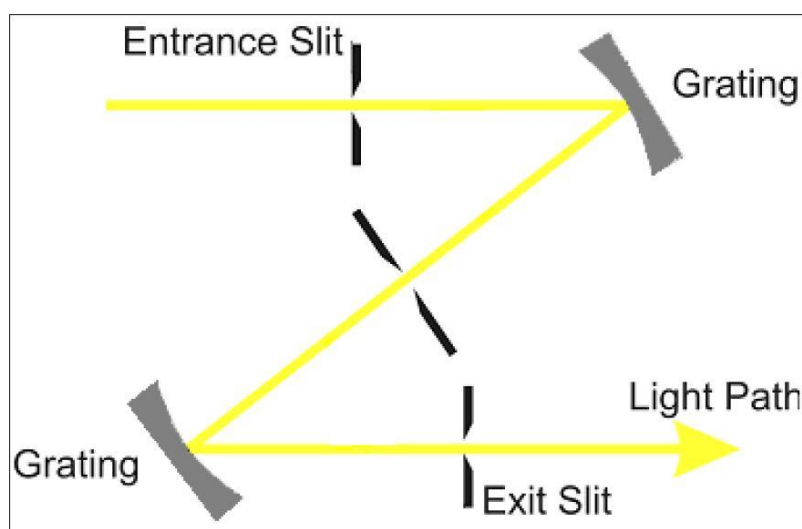


Figura 10: Vista detalhada da unidade de monocromador duplo de emissão e excitação

Sistema de fonte de luz da intensidade de fluorescência

Por norma, as aplicações de fluorescência requerem uma gama específica de comprimentos de onda de excitação. Adicionalmente, pode ser necessária luz de excitação pulsada (fluorescência resolvida no tempo [TRF]).

O sistema de fonte de luz para as configurações M do Infinite é construído a partir dos seguintes componentes:

- Lâmpada de flash
- Ótica de condensação
- Roda de filtros
- Monocromador duplo de excitação
- Feixe de fibra ótica
- Monitor da lâmpada de flash

Lâmpada de flash

A configuração M do Infinite utiliza uma lâmpada de descarga em arco xénon de alta energia (lâmpada de flash). O flash reluz através de um pequeno espaço entre dois elétrodos. A lâmpada contém uma atmosfera de xénon de alta pressão. O flash desvanece no espaço de poucos microssegundos. A frequência do flash é de 40 Hz.

A configuração M do Infinite utiliza a lâmpada de flash para medições de fluorescência e absorvância, apesar de a iluminação só ser obrigatória para TRF. As principais vantagens deste tipo singular de lâmpada são:

Alta intensidade de UV profundo ao IV próximo

Tempo de vida muito longo

Muitas aplicações - apenas um tipo de lâmpada

Não é necessário tempo de aquecimento

Condensador

As óticas do tipo condensador da sílica fundida concentram a luz de flash na fenda da entrada do monocromador de excitação.

Roda de filtros

Existe uma roda de filtros entre o condensador e o monocromador de excitação. A roda de filtros contém filtros óticos de comprimento de onda específico, que são necessários para bloquear ordens de difração indesejadas produzidas pelas grelhas óticas. Os filtros são ajustados automaticamente.

Monocromador duplo de excitação

Tanto nas aplicações de fluorescência como absorvância, é utilizado o monocromador duplo de excitação para selecionar todos os comprimentos de onda desejados do espectro da lâmpada de flash na gama de 230 a 850 nm (versão espectralmente melhorada) para intensidade de fluorescência e de 230 nm a 1000 nm para aplicações de absorvância.

Em muitos casos, os espectros de emissão de fluorescência não dependem do comprimento de onda de excitação exato; por conseguinte, para se obter um sinal de fluorescência total máximo, deve ser utilizada uma grande largura de banda de excitação.

A largura de banda do sistema de monocromador das configurações M do Infinite é < 9 nm para comprimentos de onda > 315 nm e < 5 nm para comprimentos de onda ≤ 315 nm.

Para uma descrição mais detalhada de como funciona um monocromador, ver abaixo.

Descrição de como funciona um monocromador

Um monocromador é um instrumento ótico que permite a seleção de um comprimento de onda a partir de um espectro ótico definido. O seu modo de funcionamento pode ser comparado a um filtro ótico sintonizável, que permite ajustar tanto o comprimento de onda como a largura de banda.

Um monocromador é composto por uma fenda de entrada, um elemento dispersivo e uma fenda de saída. O elemento dispersivo difrata a luz no espectro ótico e projeta-a para a fenda de saída. Um elemento dispersivo pode ser realizado utilizando um prisma de vidro ou uma grelha ótica. Os monocromadores modernos, como os utilizados nas configurações M do Infinite, são concebidos com grelhas óticas.

A rotação da grelha ótica à volta do seu eixo vertical move o espectro através da fenda de saída e apenas uma parte do espectro (banda passante) atravessa a fenda de saída. Isto significa que, quando a fenda de entrada do monocromador

é iluminada com luz branca, apenas passa pela fenda de saída a luz com um comprimento de onda específico (luz monocromática). O comprimento de onda desta luz é definido pelo ângulo de rotação da grelha ótica. A largura de banda é definida pela largura da fenda de saída. A largura de onda é definida como largura à meia altura (FWHM - full width at half maximum).

Os monocromadores bloqueiam os comprimentos de onda indesejados, que costumam somar 10^3 . Isso significa que, quando o monocromador é ajustado para luz com um comprimento de onda de 500 nm e o detetor detecta um sinal de 10 000 contagens, a luz com comprimentos de onda diferentes cria um sinal de apenas 10 contagens. Para aplicações na gama de fluorescência, este bloqueio muitas vezes não é suficiente, uma vez que a luz de fluorescência a detectar é geralmente bastante mais fraca do que a luz de excitação. Para se obter um nível de bloqueio mais elevado, são conectados dois monocromadores em série, ou seja, a fenda de saída do primeiro monocromador atua simultaneamente como a fenda de entrada do segundo monocromador. Tal é conhecido como monocromador duplo. Neste caso, a contagem de bloqueio atinge um fator de 10^6 , um valor geralmente alcançado por filtros de interferência.

Nas configurações M do Infinite, é instalado um monocromador duplo tanto do lado de excitação como de detecção. Isso permite uma seleção fácil de comprimentos de onda de excitação e fluorescência sem limitações através de filtros de corte.

Feixe de fibra ótica

A luz da fenda de saída do monocromador de excitação está acoplada num feixe de fibra ótica, que guia a luz para a ótica de medição do topo ou a ótica de medição do fundo. A extremidade inferior de cada feixe de fibra atua como uma fonte de luz de cor específica. Em ambos os casos, uma pequena parte da luz é sempre guiada para o díodo do monitor da lâmpada de flash.

Monitor de flash

A energia luminosa de flashes individuais pode variar ligeiramente. Para ter essas variações em conta, um fotodíodo de silicone monitoriza a energia de cada flash. Os resultados de medição de fluorescência e absorvância são compensados de forma correspondente.

Ótica de fluorescência do topo/fundo

A luz de flash entra no sistema ótico e é concentrada pelo condensador na fenda de entrada do monocromador de excitação. O comprimento de onda da luz de excitação é selecionado no monocromador. Depois de passar o monocromador, a luz de excitação é acoplada num feixe de fibra, que guia a luz para a cabeça de medição do topo ou do fundo. De seguida, a luz é concentrada pelo sistema de lentes do topo/fundo na amostra.

A luz de fluorescência é novamente recolhida pelo sistema de lentes do topo/fundo, acoplada em feixes de fibra de fluorescência e guiada para o sistema de detecção.

A ótica de medição de fluorescência do topo possui os seguintes componentes:

- Sistema de lentes de intensidade de fluorescência do topo
- Feixe de fibra de fluorescência
- A ótica do fundo possui os seguintes componentes:
- Espelho de fluorescência do fundo
- Feixe de fibra de fluorescência

Sistema de lentes de intensidade de fluorescência do topo

O lado de saída do feixe atua como uma fonte de luz de cor específica. O sistema de lentes na extremidade da fibra de excitação do topo foi concebido para concentrar a luz de excitação na amostra e para recolher a luz de fluorescência e refocá-la para o feixe de fibra de fluorescência.

As lentes da objetiva são feitas de sílica fundida. Este material permite uma elevada transmissão UV e está praticamente isento de autofluorescência.

Tamanho do spot de excitação

O tamanho da secção transversal do feixe de fibra determina o diâmetro da cintura do feixe (tamanho do spot) no poço da microplaca. O diâmetro do spot para a série M é de aprox. 3 mm para a ótica do topo e 2 mm para a ótica do fundo.

Feixe de fibra de fluorescência do topo e do fundo

O feixe de fibra conectado à cabeça de medição do topo/fundo contém uma mistura homogênea tanto de fibras de excitação como de emissão. As fibras de emissão guiam a luz de fluorescência para a cabeça do monocromador de emissão, onde um sistema de lentes concentra a luz na fenda de entrada do monocromador de emissão.

Espelho de fluorescência do fundo

O lado de saída do feixe atua como uma fonte de luz de cor específica. O espelho na extremidade da fibra de excitação do fundo foi concebido para concentrar a luz de excitação na amostra e para recolher a luz de fluorescência e refocá-la para o feixe de fibra de fluorescência.

Posicionamento Z (fluorescência do topo apenas nas configurações M do Infinite)

A altura da objetiva por cima da amostra pode ser ajustada com a função de posição Z. Como a luz de excitação é refletida pelo fluido de amostra, o ajuste Z ajuda a maximizar a relação sinal/ruído. Para mais detalhes sobre o posicionamento Z, consulte o capítulo 4.5.2 Otimização Z (medições FI do topo apenas com configurações M do Infinite).

Deteção da intensidade de fluorescência

O sistema de deteção de fluorescência é utilizado para ambos os modos de medição: fluorescência de cima (topo) e por baixo dos poços da microplaca (fundo).

A luz de fluorescência é concentrada na fenda de entrada do monocromador de emissão. Depois de passar o monocromador, a luz é concentrada no detetor (PMT). Existe uma roda de filtros entre o monocromador e o PMT.

O sistema de deteção de fluorescência possui os seguintes componentes:

- Monocromador duplo de emissão
- Roda de filtros PMT
- Detetor PMT

Monocromador duplo de emissão

À semelhança do monocromador duplo de excitação, o monocromador duplo de emissão é utilizado para selecionar qualquer comprimento de onda do sinal de fluorescência.

Funciona como um filtro ajustável para diferenciar a dispersão da luz de excitação e a fluorescência não específica. A gama de comprimento de onda pode ser selecionada entre 280 e 850 nm no instrumento espectralmente melhorado. A largura de banda é de 20 nm.

Roda de filtros PMT

A roda de filtros contém filtros óticos de comprimento de onda específico, que são necessários para bloquear ordens de difração indesejadas produzidas pelas grelhas óticas. Os filtros são ajustados automaticamente.

Detetor PMT

É utilizado um tubo fotomultiplicador (PMT) para a deteção dos níveis tão baixos de luz associados à fluorescência. O PMT da versão espectralmente melhorada das configurações M do Infinite é sensível até ao infravermelho próximo (NIR), apresentando ainda uma baixa corrente escura. Os circuitos eletrónicos utilizam uma conversão analógica/digital da corrente de saída do PMT. O ajuste do ganho do PMT permite a medição de uma vasta gama de concentrações em domínios de concentração mais baixos ou mais elevados. Para mais detalhes, consulte a secção 4.5.1 Parâmetros do instrumento.

2.5.2 Sistema de intensidade de fluorescência (configurações F do Infinite)

As seguintes partes compõem o sistema de intensidade de fluorescência das configurações F do instrumento Infinite:

- Fonte de luz
- Ótica de fluorescência
- Sistema de deteção de fluorescência

O sistema de fluorescência do topo é apresentado na Figura 11 e o sistema do fundo na Figura 12. As setas cheias indicam o caminho da luz de excitação; as setas tracejadas determinam o caminho da luz de emissão.

Esquema da intensidade de fluorescência do topo

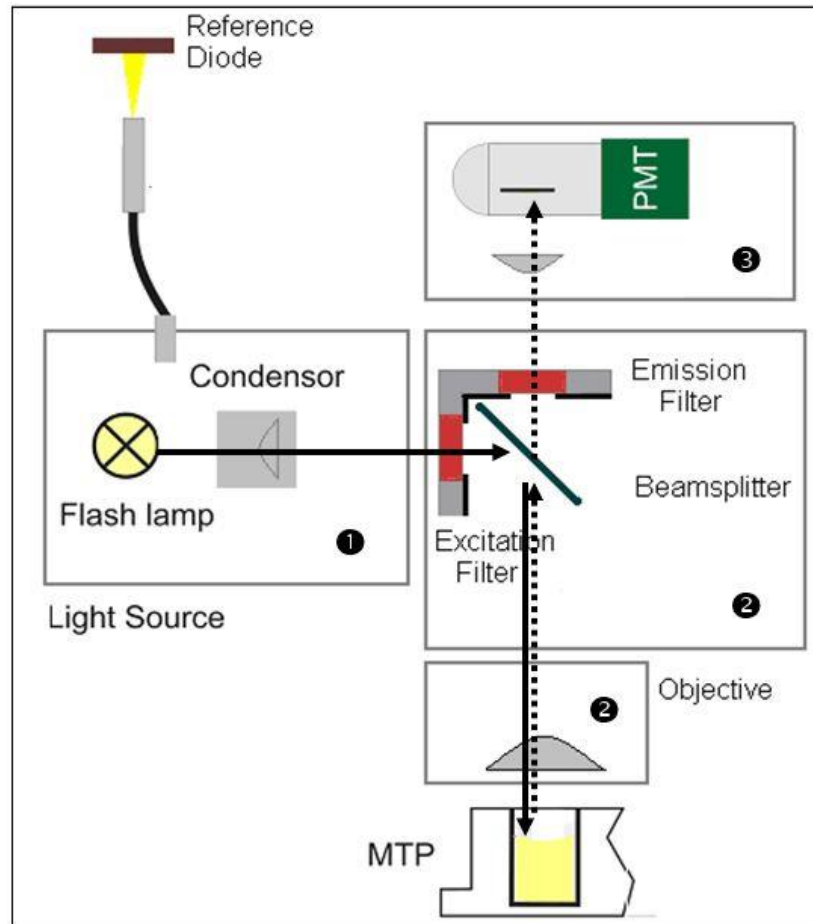


Figura 11: Sistema de intensidade de fluorescência do topo das configurações F do Infinite

Esquema da intensidade de fluorescência do fundo

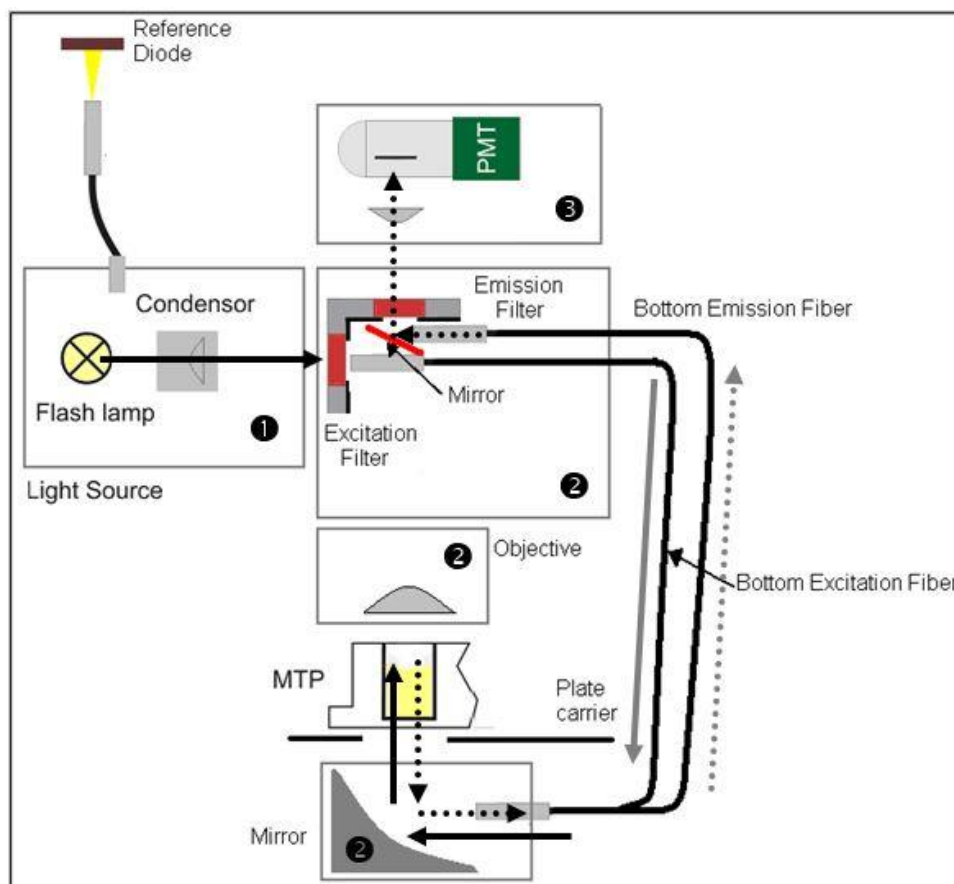


Figura 12: Sistema de intensidade de fluorescência do fundo das configurações F do Infinite

Sistema de fonte de luz

A luz de flash entra no sistema ótico ao ser concentrada através de uma fenda com o filtro. Esta abertura atua como uma fonte de luz de cor específica.

O sistema de fonte de luz para as configurações F do Infinite é construído a partir dos seguintes componentes:

- Lâmpada de flash
- Ótica de condensação
- Filtros de excitação
- Monitor da lâmpada de flash

Lâmpada de flash

A configuração F do Infinite utiliza uma lâmpada de descarga em arco xénon de alta energia (lâmpada de flash). O flash reluz através de um pequeno espaço entre dois elétrodos. A lâmpada contém uma atmosfera de xénon de alta pressão. O flash desvanece no espaço de alguns microssegundos. A frequência do flash é de 40 Hz.

A configuração F do Infinite utiliza a lâmpada de flash para medições de fluorescência e absorvância, apesar de a iluminação só ser obrigatória para TRF. As principais vantagens deste tipo singular de lâmpada são:

- Alta intensidade de UV profundo ao IV próximo
- Tempo de vida muito longo
- Muitas aplicações - apenas um tipo de lâmpada
- Não é necessário tempo de aquecimento

Condensador

A ótica tipo condensador focaliza a luz através da fenda de entrada para o sistema ótico de fluorescência.

Filtro de excitação

Os filtros de banda passante de comprimento de onda específico servem para selecionar a gama de comprimento de onda que interessa a partir do espectro completo da luz de excitação proveniente da lâmpada de flash. Os filtros são instalados em tabuleiros amovíveis e são intercambiáveis.

Monitor de flash

A energia luminosa de flashes individuais pode variar ligeiramente. Para ter essas variações em conta, um fotodíodo de referência de silicone monitoriza a energia de cada flash. Os resultados de medição de fluorescência são compensados de forma correspondente.

Ótica de fluorescência do topo

A luz de flash entra no sistema ótico ao ser concentrada através de uma fenda e depois através do filtro de excitação. Dependendo do comprimento de onda medido, um espelho semitransparente (50%) ou dicróico especial reflete a luz em direção à microplaca. O sistema de lentes da objetiva concentra a luz na amostra.

A emissão de fluorescência é medida a partir de cima do poço. A luz de fluorescência é recolhida pela objetiva, direcionada através do espelho apropriado e focalizada através da fenda de saída para a deteção.

Sistema de lentes da objetiva

A objetiva foi concebida para recolher a luz de fluorescência emitida de um poço e focalizá-la através da fenda de saída para o sistema de deteção.

As lentes da objetiva são feitas de sílica fundida. Este material permite uma elevada transmissão UV e está praticamente isento de autofluorescência.

Seleção do espelho - Fluorescência do topo (apenas configurações F do Infinite)

A configuração F do Infinite está equipada com um porta-espelho que aloja um espelho de 50%, bem como um espelho dicróico 510.

A vantagem do espelho de 50% é que funciona com qualquer par de comprimentos de onda de excitação e emissão. No entanto, 50% da luz de excitação direcionada para a amostra e, subsequentemente, 50% da luz de emissão vinda da amostra perdem-se.

Os espelhos dicróicos dependem do comprimento de onda e foram concebidos para refletir quase inteiramente uma determinada gama de comprimento de onda. Os espelhos dicróicos apresentam uma alta reflexão de luz de excitação e uma elevada transmissão de luz de emissão. Além disso, oferecem geralmente uma melhor relação sinal/ruído, em comparação com espelhos de 50%.

Disponível para formatos de placa até 384 poços.



Nota

Um espelho dicróico tem de corresponder aos comprimentos de onda de excitação e emissão de fluorescência selecionados.

Tipo de espelho	Reflexão (excitação)	Transmissão (emissão)
Espelho de 50%	230 – 900 nm	230 – 900 nm
Dicroico 510 (p. ex., fluoresceína)	320 – 500 nm	520 – 780 nm

De acordo com os comprimentos de onda definidos no script de medição, o espelho dicroico é automaticamente selecionado se os comprimentos de onda de excitação e de emissão corresponderem à gama especificada desse espelho. Se o comprimento de onda de excitação ou o de emissão não corresponder às gamas do espelho dicroico, é automaticamente selecionado o espelho de 50% para a medição.

Ótica de fluorescência do fundo

A luz de flash entra no sistema ótico ao ser concentrada através de uma fenda e depois através do filtro de excitação. A fibra de excitação do fundo guia a luz para a sonda da ótica do fundo, que é composta por um espelho elíptico que focaliza a luz através do fundo da microplaca para o poço. A luz emitida é concentrada na fibra de excitação do fundo, que guia a luz sobre um espelho através do filtro de emissão para o sistema de deteção de fluorescência.

Deteção de fluorescência

Filtro de emissão

Os filtros de banda passante de comprimento de onda específico servem para diferenciar sinais de fluorescência não específicos da luz de emissão em questão específica da amostra. Os filtros são instalados em tabuleiros amovíveis e são intercambiáveis.

Os filtros de fluorescência podem ser usados indiscriminadamente como filtros de excitação ou emissão, dependendo dos requisitos de medição.

O diâmetro do spot para configurações F do Infinite é de aproximadamente 2 mm.

Detetor PMT

É utilizado um tubo fotomultiplicador (PMT) para a deteção dos níveis tão baixos de luz associados à fluorescência. Para mais detalhes, consulte a secção Deteção da intensidade de fluorescência, página 28.

2.5.3 Sistema de polarização de fluorescência (apenas Infinite F Plex)

Para detalhes técnicos, consulte o capítulo 2.5.2 Sistema de intensidade de fluorescência (configurações F do Infinite).

O Infinite F Plex, a configuração F do Infinite para medições de polarização de fluorescência (FP), é fornecido com um tabuleiro de filtros FP padrão. O tabuleiro de filtros está equipado com filtros e polarizadores para a excitação e a emissão, respetivamente com 485 e 535 nm, e pode ser aplicado para a medição, por exemplo, de aplicações de FP baseadas na fluoresceína.

Para mais detalhes sobre como montar polarizadores e filtros FP, consulte o capítulo 4.4 Definição de tabuleiros dos filtros (configurações F do Infinite).

2.5.4 Sistema de absorvância (configurações F do Infinite)

Para medições de absorvância, é utilizado um caminho ótico semelhante ao da excitação de fluorescência. O módulo de medição de absorvância encontra-se por baixo do transportador de placas. Ele mede a luz transmitida através da amostra. Antes da medição da microplaca, realiza-se uma medição de referência com o transportador de placas retirado do feixe de luz (ver também 2.4.2 Absorvância).

O sistema de absorvância é apresentado na Figura 13 e é constituído pelos seguintes componentes:

- Fonte de luz
- Ótica de absorvância
- Unidade de deteção de absorvância

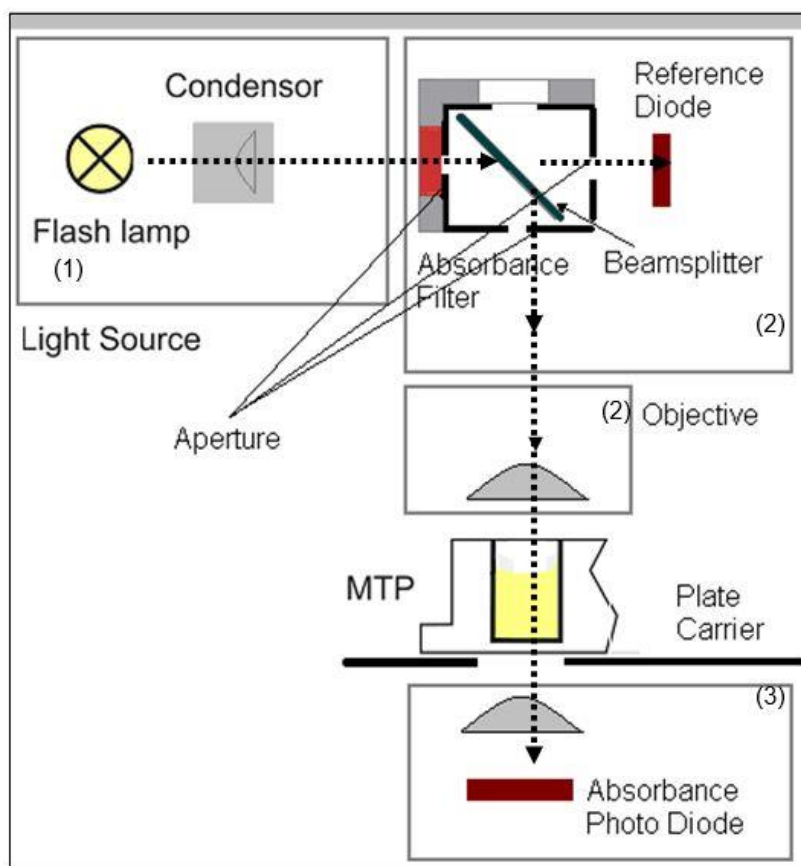


Figura 13: Sistema de absorvância das configurações F do Infinite

Sistema de fonte de luz

O sistema de fonte de luz de absorvância é semelhante ao sistema de fluorescência do topo.

Filtro de banda passante

Em aplicações de absorvância, são necessários filtros óticos do tipo de banda passante para seleccionar os comprimentos de onda úteis a partir do espectro da lâmpada de flash. Os filtros são montados em tabuleiros amovíveis.

Filtro de absorvância

As medições de absorvância requerem filtros de banda passante relativamente estreitos (2 – 10 nm) com inclinações íngremes.

Ótica de absorvância

O porta-espelho possui uma posição de absorvância. Um par de pequenas fendas forma um feixe de luz estreito e mais colimado quando comparado com a excitação de fluorescência.

A luz focalizada através do líquido distribuído é ligeiramente refratada nas interfaces entre o ar, o líquido e o fundo da placa. Para se conseguir uma medição fiável na presença do menisco, uma lente de focagem volta a recolher os raios de luz que podem ter sido refratados demasiado longe do eixo ótico.

O tamanho do spot do feixe de luz de absorvância é de 0,5 mm (diâmetro).

Deteção de absorvância

Um fotodíodo de silicone é utilizado para a medição do feixe de luz. É sensível a uma vasta gama de comprimentos de onda. O fotodíodo é ideal para os níveis de luminosidade com medições de absorvância até 4 DO.



Nota

Para a medição de absorvância de ácidos nucleicos em pequenos volumes (2 µl), utilize a placa NanoQuant Plate™ da Tecan.

Com este dispositivo, é possível medir 16 amostras diferentes numa medição.

Para pedir mais informações, contacte o seu distribuidor local da Tecan ou visite: www.tecan.com.

2.5.5 Sistema de absorvância (configurações M do Infinite)

Para medições de absorvância, é utilizado um caminho ótico semelhante ao da excitação de fluorescência.

O sistema de absorvância é composto por:

- fonte de luz
- monocromador de excitação
- ótica de absorvância MTP
- módulo de medição de absorvância MTP

As óticas do tipo condensador focalizam a luz através dos filtros de excitação e depois através da fenda de entrada para o monocromador de excitação. De seguida, um feixe de fibra guia a luz do monocromador de excitação para a ótica de absorvância MTP, que concentra a luz nos poços. O módulo de medição de absorvância MTP encontra-se por baixo do transportador de placas. Estes módulos medem a luz transmitida através da amostra.

Antes da medição da microplaca (MTP), realiza-se uma medição de referência com o transportador de placas retirado do feixe de luz.

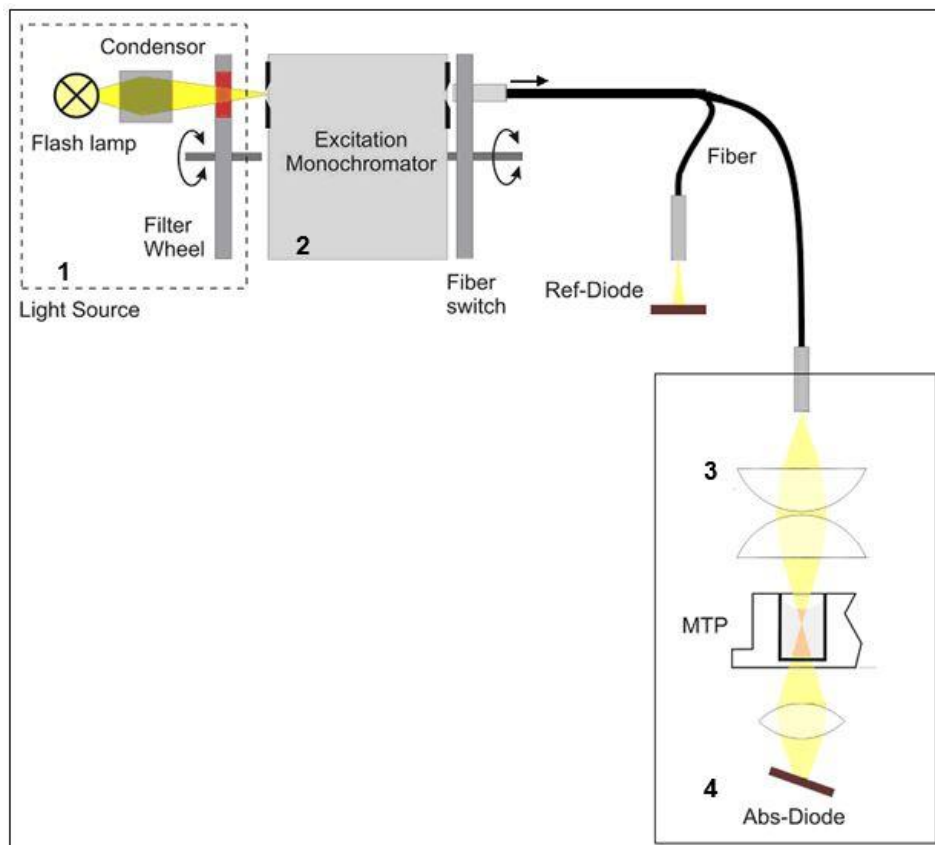


Figura 14: Sistema óptico de absorvância para configurações M do Infinite

Para mais detalhes sobre a fonte de luz (1) e o monocromador de excitação (2), consulte Sistema de fonte de luz da intensidade de fluorescência, página 25.

Ótica de absorvância MTP

Um feixe de fibra guia a luz do sistema do monocromador de excitação para a ótica de absorvância MTP.

A ótica de absorvância é composta por um par de lentes que focaliza o feixe de luz no poço da microplaca.

O tamanho do spot do feixe de luz de absorvância é de 0,7 mm de diâmetro.

Deteção de absorvância MTP

Um fotodíodo de silicone é utilizado para a medição da luz transmitida. É sensível a uma vasta gama de comprimentos de onda. O fotodíodo é ideal para os níveis de luminosidade com medições de absorvância até 4 DO.



Nota

Para a medição de absorvância de ácidos nucleicos em pequenos volumes (2 µl), utilize a placa NanoQuant Plate™ da Tecan.

Com este dispositivo, é possível medir 16 amostras diferentes numa medição.

Para pedir mais informações, contacte o seu distribuidor local da Tecan ou visite: www.tecan.com

Correção por comprimento do caminho

A **correção por comprimento do caminho** para leitores Infinite com configurações de monocromador pode ser utilizada para corrigir os valores de absorvância medidos de amostras em microplacas para um comprimento do caminho de 1 cm, a fim de comparar os resultados de medição aos lidos com tinas ou para realizar uma análise quantitativa de amostras baseadas no seu coeficiente de extinção.

Segundo a lei de Lambert-Beer, a quantidade de luz absorvida é proporcional à concentração da amostra e ao comprimento do caminho da luz que atravessa a amostra. Ao contrário de uma tina padrão com um comprimento do caminho de 1 cm, o caminho da luz numa microplaca é desconhecido e depende do volume de enchimento dos poços. Para soluções aquosas, o comprimento do caminho pode ser calculado a partir dos valores de absorvância para água registados na gama de comprimento de onda de infravermelho próximo (900 nm a 1000 nm), utilizando uma tina e a respetiva microplaca.



Nota

A absorção de água depende da temperatura. Certifique-se de que todas as medições são efetuadas à exatamente mesma temperatura.



Nota

Qualquer absorção de luz de componentes de ensaio entre 900 e 1000 nm interferão com a correção por comprimento do caminho.



Nota

Tenha em conta que o amortecedor (concentração de sal), os solventes orgânicos, o menisco e as características da placa podem afetar a medição de correção por comprimento do caminho.



PRECAUÇÃO

AMOSTRAS TURVAS PODEM ENCURTAR O COMPRIMENTO DO CAMINHO ESTIMADO DEVIDO À DISPERSÃO DA LUZ. A CORREÇÃO POR COMPRIMENTO DO CAMINHO COM TINA NÃO COMPENSARÁ ESTE EFEITO.

O cálculo do **comprimento do caminho** da amostra realiza-se da seguinte forma:

$$\text{Comprimento do caminho}_{\text{Amostra}} = (A_{\text{TW}} - A_{\text{RW}}) / (A_{\text{Água}}) * 1 \text{ cm}$$

A_{TW} = Absorção de amostra aquosa com comprimento de onda de teste

A_{RW} = Absorção de amostra aquosa com comprimento de onda de referência

$A_{\text{Água}}$ = A_{TW} menos A_{RW} de água numa tina de 1 cm (= fator de correção)

O comprimento do caminho calculado é finalmente utilizado para corrigir a absorvância da amostra (A_{Amostra}) com um comprimento de onda específico do corante de 1 cm ($A_{\text{AmostraCorrigida}}$):

$$A_{\text{AmostraCorrigida}} = A_{\text{Amostra}} / \text{Comprimento do caminho}_{\text{Amostra}}$$

2.5.6 Sistema de luminescência

O sistema de luminescência do leitor Infinite é composto pelas seguintes partes:

- Ótica de luminescência
- Unidade de deteção (PMT de contagem de fóton único)

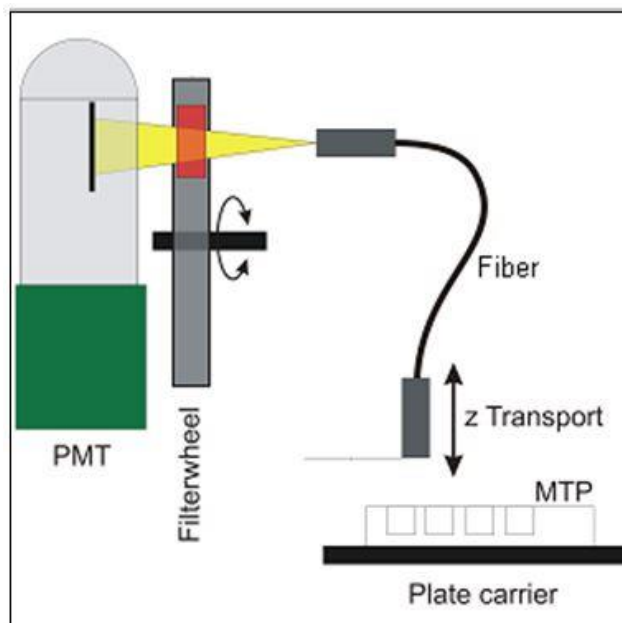


Figura 15: Sistema ótico de luminescência

O feixe de fibra de luminescência guia a luz da amostra para a unidade de deteção (PMT), passando por uma roda de filtros. O PMT (tubo fotomultiplicador) de contagem de fóton foi concebido para aplicações em quimioluminescência e bioluminescência fornecendo uma gama dinâmica elevada. O ruído excepcionalmente baixo e a alta sensibilidade permitem a deteção de níveis de luminosidade muito baixos.

A posição Z do feixe de fibra de luminescência fixado no porta-ótica é automaticamente ajustada pelo software e depende do ficheiro de definição da placa selecionado. Como a luz é refratada na superfície da amostra líquida, o ajuste Z ajuda a maximizar a relação sinal/ruído e a minimizar a diafonia.

Ótica de luminescência

No modo de medição de luminescência, o leitor Infinite utiliza uma posição fixa da microplaca e uma cabeça móvel de medição de luminescência (ver Figura 15: Sistema ótico de luminescência). A espessura da placa é definida selecionando o tipo de placa correspondente no software (consultar o Manual de Instruções do i-control).

Fibra

Uma fibra de vidro guia a luz de uma amostra para a unidade de deteção. A fibra foi concebida para medir placas de 6 a 384 poços.

Roda de filtros

Uma roda de filtros com 6 posições de filtro à frente da janela do PMT é comutada para o canal de luminescência desejado. A sensibilidade do sistema de deteção faz com que seja necessário atenuar os elevados níveis de luz de luminescência; por conseguinte, a roda de filtros também pode comutar um filtro de densidade neutra através da saída de fibra selecionada.

Posição da roda de filtros	Filtro
Posição 1	Lumi Verde*
Posição 2	Lumi Magenta*
Posição 3	Filtro de densidade neutra OD2
Posição 4	Sem atenuação
Posição 5	NB Vermelho **
Posição 6	NB Azul2 **

* recomendado para o ensaio BRET² e o ensaio ChromaGlo - Luciferase

** recomendado para o ensaio NanoBRET™

O filtro de densidade neutra OD2 serve para atenuar os elevados níveis de luminosidade com um fator de 100 (correspondente a uma absorvância de 2 OD). Os valores resultantes são automaticamente colocados numa escala de contagens por segundo e apresentados de forma correspondente nos resultados fornecidos pelo software.

Consulte Figura 16 a Figura 19 para os espectros de transmissão dos filtros de luminescência.

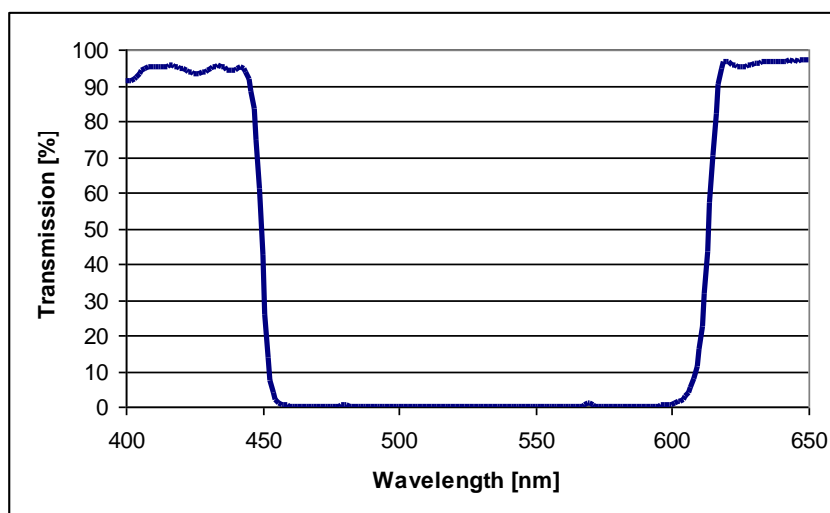


Figura 16: Espectro de transmissão do filtro **Lumi Magenta**

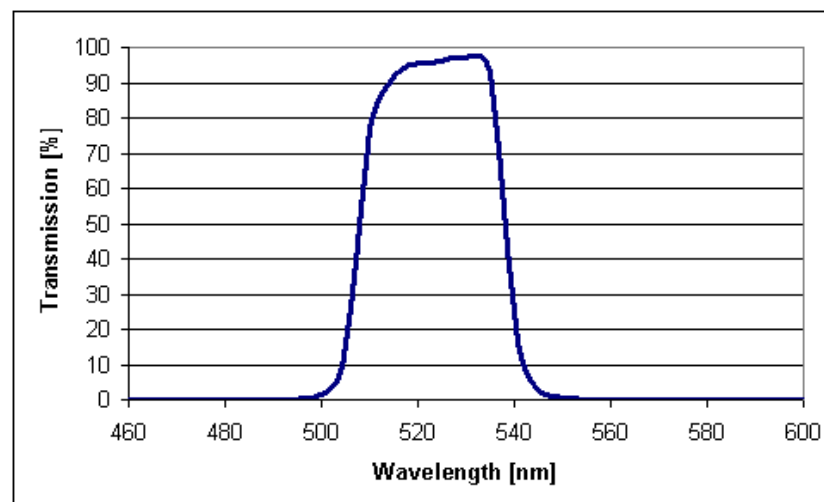


Figura 17: Espectro de transmissão do filtro **Lumi Verde**

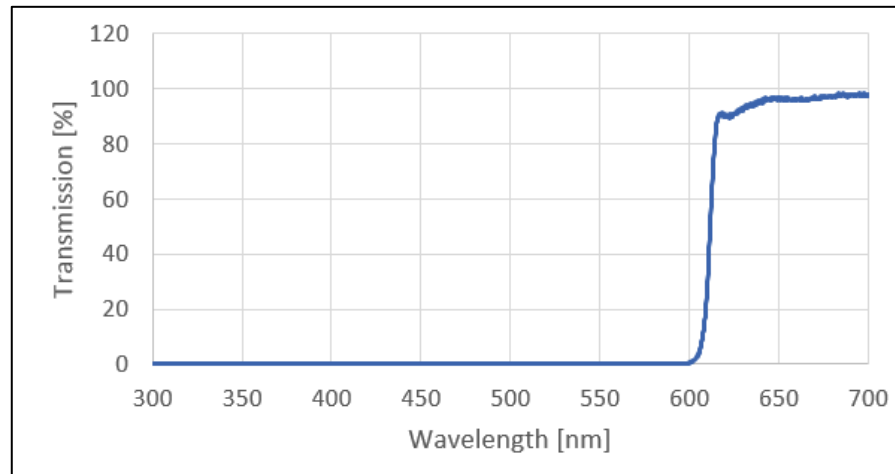


Figura 18: Espectro de transmissão do filtro **NB Vermelho**

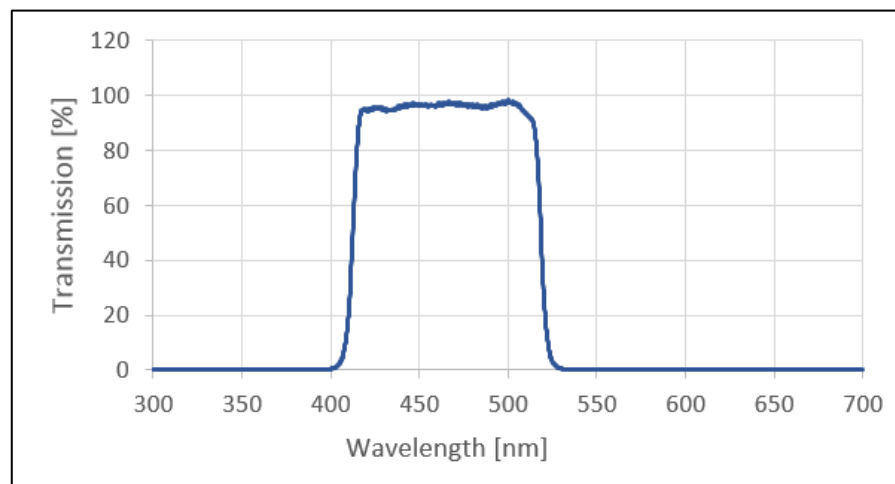


Figura 19: Espectro de transmissão do filtro **NB Azul2**

2.5.7 Porta de tina (configurações *M do Infinite*)

As configurações *M do Infinite* podem ser opcionalmente equipadas com uma porta de tina para medições de absorvância.

Para medições de absorvância com a porta das configurações *M do Infinite*, é utilizado um caminho ótico semelhante ao da excitação de fluorescência.

O sistema de absorvância é composto por:

- fonte de luz
- monocromador de excitação
- módulo de medição de absorvância na tina
- módulo de absorvância na microplaca

As óticas do tipo condensador focalizam a luz através dos filtros de excitação e depois através da fenda de entrada para o monocromador de excitação. De seguida, um feixe de fibra guia a luz do monocromador de excitação para a ótica de absorvância na tina, que focaliza a luz através da tina. O módulo de medição de absorvância na tina encontra-se logo após a porta de tina. Um fotodíodo de silicone mede a luz transmitida através da amostra. Antes da medição da tina, realiza-se uma medição de referência relativamente ao ar com a porta de tina retirada do feixe de luz.

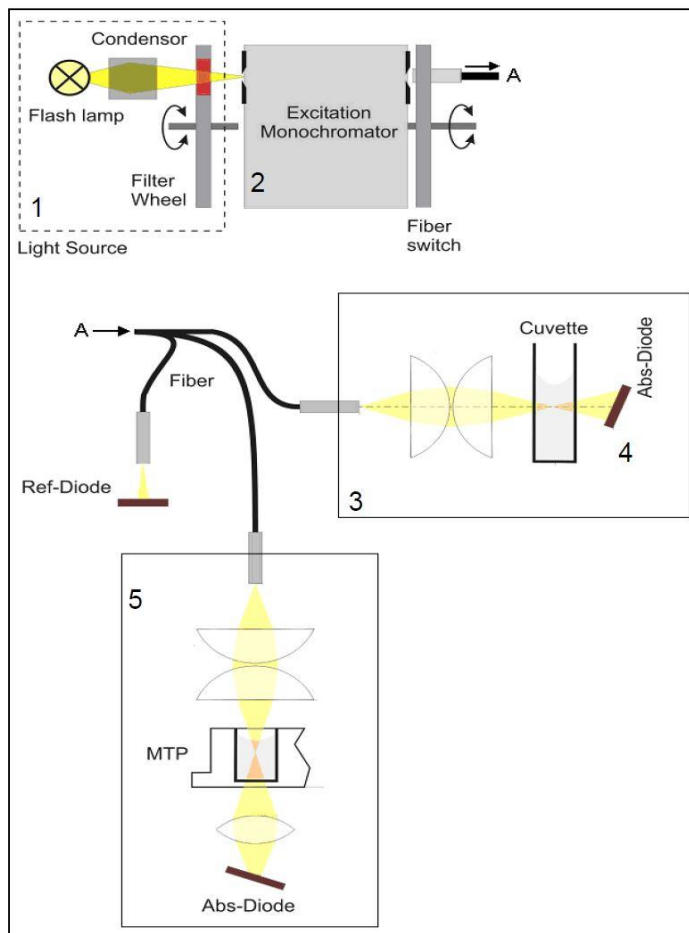


Figura 20: Sistema óptico do módulo de absorvância das configurações M do Infinite, incluindo a porta de tina. A figura também mostra o caminho da luz do módulo de absorvância na microplaca (5).

Para mais detalhes sobre a fonte de luz (1) e o monocromador de excitação (2), consulte o capítulo 2.4.1 Fluorescência/A) Intensidade de fluorescência (FI).



Nota

A porta de tina é uma opção exclusiva das configurações M do Infinite. Esta opção não está disponível para as configurações F do Infinite. Com as configurações F do Infinite, as tinas podem ser medidas utilizando um adaptador de tina da Tecan colocado no transportador de placas.

Ótica de absorvância na tina

Um feixe de fibra guia a luz do sistema do monocromador de excitação para a ótica de absorvância na tina.

Esta ótica é composta por um par de lentes que focaliza o feixe de luz na tina. No ponto focal, o diâmetro do spot do feixe de luz de absorvância é de 1,9 mm.

Deteção de absorvância na tina

Um fotodiodo de silicone é utilizado para a medição da luz transmitida. É sensível a uma vasta gama de comprimentos de onda. O fotodiodo é ideal para os níveis de luminosidade com medições de absorvância abaixo de 4 DO. Os valores de medição acima de 4 OD estão marcados como **OVER** na folha de resultados.

Tipos de tinas

A porta de tina é compatível com as seguintes tinas:

Tipo de tina	Largura x Profundidade	Altura máxima (incluindo a tampa)	Volume de enchimento	Exemplo
Tinas padrão	12,5 x 12,5 mm	55 mm	2 ml	Hellma 110 QS, 10 mm*
Tinas semi-macro	12,5 x 12,5 mm	55 mm	1 ml	Hellma 108-QS, 10 mm*
Micro-tinas	12,5 x 12,5 mm	55 mm	0,5 ml	Hellma 104.002 QS, 10 mm*
Ultra-micro-tinas	12,5 x 12,5 mm	55 mm	100 µl	Hellma 105.202, 10 mm*

Não podem ser utilizadas tinas com uma janela de medição < 2 mm (diâmetro).



PRECAUÇÃO

UTILIZE SEMPRE UM VOLUME DE ENCHIMENTO VÁLIDO. CERTIFIQUE-SE DE QUE O NÍVEL DO LÍQUIDO NA TINA EXCEDE OS 20 MM (ALTURA). CASO CONTRÁRIO, O CAMINHO DA LUZ NA TINA PODE NÃO FICAR COMPLETAMENTE CHEIO DE LÍQUIDO, PODENDO CAUSAR RESULTADOS DE MEDIÇÃO ERRADOS.



PRECAUÇÃO

A PORTA DE TINA DAS CONFIGURAÇÕES M DO INFINITE NÃO PODE SER USADA PARA TINAS COM UMA JANELA DE MEDIÇÃO < 2 MM (DIÂMETRO) E UMA ALTURA DO CENTRO INFERIOR A 15 MM.

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

Inserção da tina

O suporte de tinas está fixado firmemente ao transportador de tinas e move a tina para dentro e para fora. O transportador de tinas faz parte integrante do instrumento e não pode ser removido.

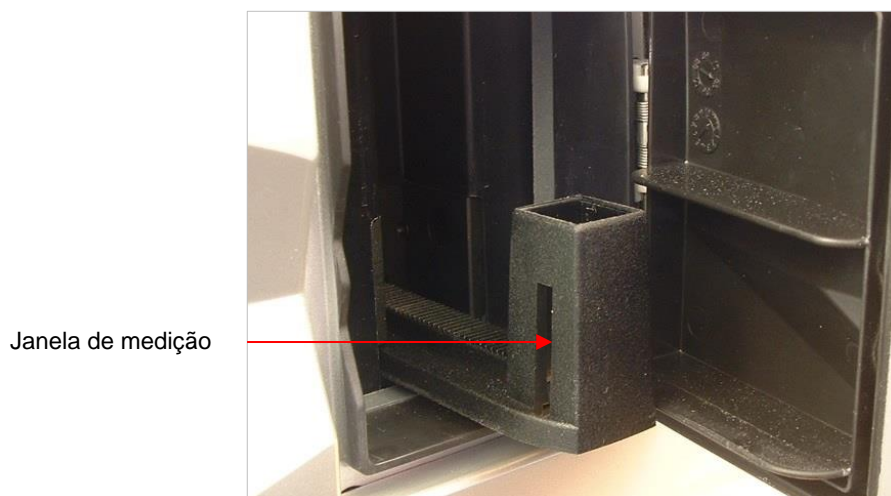


Figura 21: Porta de tina para configurações M do Infinite

A tina tem de ser inserida de modo que a janela de medição da tina corresponda à janela de medição do suporte de tinas:

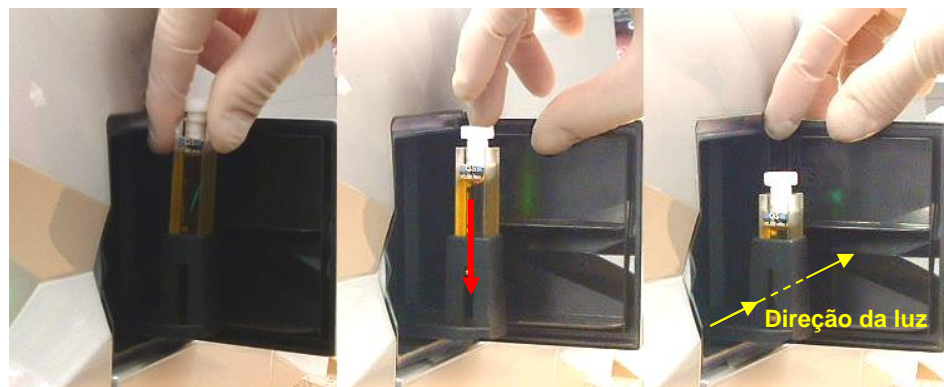


Figura 22: Como inserir a tina no suporte de tinas

3. Instalação

3.1 Desembalar e verificar

A embalagem fornecida inclui os seguintes itens:

- CABO USB 2.0 A/B 1.8 M preto com encaixe de ferrite
- Suporte de armazenamento do software para configurações F/M do Infinite
- Relatório de qualidade OOB
- Bloqueio para transporte (montado)
- Manual de Instruções
- Protocolo de teste final

A embalagem das configurações F do Infinite inclui adicionalmente os seguintes itens:

- Caixa de acessórios
- Anéis de retenção dos filtros (8)
- Ferramenta de montagem dos filtros
- Pinças de plástico
- Tabuleiro do filtro

A embalagem do módulo de injetores para 1 injetor inclui os seguintes itens:

- Porta-frascos
- Copo para expurgação
- Frasco de 125 ml castanho
- Injetor fictício (montado)
- Recipiente de resíduos
- Frasco de 15 ml

O segundo injetor é fornecido com os seguintes itens:

- Porta-frascos
- Copo para expurgação
- Recipiente de resíduos
- Frasco de 15 ml



PRECAUÇÃO

O LEITOR INFINITE FOI TESTADO COM O CABO USB FORNECIDO. SE UTILIZAR OUTRO CABO USB, A TECAN AUSTRIA NÃO PODE GARANTIR O CORRETO DESEMPENHO DO INSTRUMENTO.

3.1.1 Procedimento de desembalamento

1. Verifique visualmente o contentor quanto a danos antes de o abrir.
Reporte imediatamente quaisquer danos detetados.
2. Selecione um local plano, isento de vibrações, afastado da luz direta do sol e livre de pó, solventes e vapores ácidos para colocar o instrumento. Deixe no mínimo uma distância de 10 cm entre a parte traseira do instrumento e a parede ou outros equipamentos. Certifique-se de que o transportador de placas não bate acidentalmente em lado nenhum ao movê-lo para fora. Certifique-se de que o interruptor principal e o cabo principal estão sempre acessíveis e nunca ficam obstruídos.
3. Coloque a embalagem na posição vertical e abra-a.

4. Levante o instrumento, retirando-o da embalagem, e coloque-o no local escolhido. Tenha cuidado ao levantar o instrumento e certifique-se de que está seguro de ambos os lados.
5. Verifique visualmente se o instrumento possui peças soltas, tortas ou partidas.
Reporte imediatamente quaisquer danos detetados.
6. Compare o número de série no painel traseiro do instrumento com o número de série da nota de entrega.
Reporte imediatamente quaisquer discrepâncias detetadas.
7. Verifique se os acessórios do instrumento correspondem ao que consta na nota de entrega.
8. Guarde a embalagem e os bloqueios para transporte (ver secção seguinte) para poder reutilizá-los em transportes futuros.

**AVISO**

O LEITOR INFINITE É UM INSTRUMENTO DE PRECISÃO E PESA APROX. 16 KG QUANDO ESTÁ TOTALMENTE EQUIPADO.

**PRECAUÇÃO**

A CARGA MÁXIMA ADMISSÍVEL PARA A TAMPA DO LEITOR INFINITE É DE 16 KG; NO ENTANTO, A CARGA TEM DE ESTAR DISTRIBUÍDA UNIFORMEMENTE POR TODA A SUPERFÍCIE DA TAMPA.

**PRECAUÇÃO**

A CARGA MÁXIMA ADMISSÍVEL PARA O TRANSPORTE DE PLACAS É DE 100 G. SOBRECARRREGAR O TRANSPORTADOR DE PLACAS PODE CAUSAR DANOS NO INSTRUMENTO QUE NECESSITARÃO DE UMA INTERVENÇÃO TÉCNICA DE REPARAÇÃO.

**PRECAUÇÃO**

DEIXE NO MÍNIMO UMA DISTÂNCIA DE 10 CM ENTRE A PARTE TRASEIRA DO INSTRUMENTO E A PAREDE OU OUTROS EQUIPAMENTOS.

**PRECAUÇÃO**

O INSTRUMENTO TEM DE SER COLOCADO NUM LOCAL AFASTADO DA LUZ SOLAR DIRETA. UMA ILUMINAÇÃO > 500 LUX PODE INFLUENCIAR NEGATIVAMENTE AS MEDIÇÕES DE LUMINESCÊNCIA.

3.2 Remoção dos bloqueios para transporte



PRECAUÇÃO

REMOVA O BLOQUEIO PARA TRANSPORTE ANTES DE UTILIZAR O INSTRUMENTO.

O instrumento é fornecido com o transportador de placas bloqueado no sítio, de modo que não possa ser danificado. Antes de utilizar o instrumento, é necessário remover o bloqueio para transporte, utilizando o seguinte procedimento:

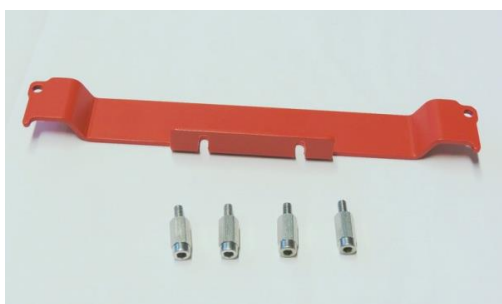
1. Certifique-se de que o instrumento está desconectado da fonte de alimentação principal.
2. Abra a aba do compartimento do transportador de placas.
3. Retire os parafusos e puxe o transportador de placas manualmente para fora.



4. Retire os parafusos do bloqueio para transporte.



5. Remova o bloqueio para transporte do transportador de placas.



6. Os bloqueios para transporte devem ser guardados para poderem ser reutilizados em transportes futuros.



PRECAUÇÃO

GUARDE A EMBALAGEM E OS BLOQUEIOS PARA TRANSPORTE PARA PODER REUTILIZÁ-LOS EM TRANSPORTES FUTUROS. O LEITOR INFINITE TEM DE SER TRANSPORTADO SEMPRE NA EMBALAGEM ORIGINAL E COM OS BLOQUEIOS PARA TRANSPORTE COLOCADOS.

3.3 Transporte e armazenamento

3.3.1 Transporte

O leitor Infinite tem de ser transportado sempre na embalagem original e com os bloqueios para transporte colocados. Antes de transportar o instrumento, ele tem de ser bem desinfetado (ver 7.4 Desinfecção do instrumento).

3.3.2 Armazenamento

Antes de guardar o instrumento, os injetores têm de ser enxaguados através de um processo de lavagem (ver 4.10.1 Expurgação e lavagem do leitor Infinite). Selecione um local plano, isento de vibrações, afastado da luz direta do sol e livre de pó, solventes e vapores ácidos para armazenar o instrumento.

Especificações de armazenamento

Temperatura	- 20 °C a + 60 °C	-4 °F a + 140 °F
Humidade relativa	< 80% sem condensação	

3.4 Requisitos de energia

O instrumento possui um sistema de deteção automática , não sendo necessário alterar a gama de tensão. Verifique as especificações no painel traseiro do instrumento e assegure-se de que a tensão do instrumento corresponde às respetivas especificações.

A gama de tensão é de 100-120/220-240V.

Se a tensão não estiver correta, contacte o seu distribuidor.



PRECAUÇÃO

NÃO UTILIZE O INSTRUMENTO SE A TENSÃO NÃO ESTIVER BEM DEFINIDA. SE O INSTRUMENTO FOR LIGADO COM A TENSÃO ERRADA, FICARÁ DANIFICADO.



AVISO

SE AS INSTRUÇÕES CONSTANTES DESTE DOCUMENTO NÃO FOREM CORRETAMENTE SEGUIDAS, O INSTRUMENTO PODE DANIFICAR-SE OU O PROCEDIMENTO PODE NÃO SER EFETUADO CORRETAMENTE, NÃO SENDO POSSÍVEL GARANTIR A SEGURANÇA DO INSTRUMENTO.

3.5 Ligar o instrumento



PRECAUÇÃO

ANTES DE LIGAR O INSTRUMENTO PELA PRIMEIRA VEZ APÓS A INSTALAÇÃO, DEVE DEIXÁ-LO REPOUSAR DURANTE NO MÍNIMO 3 HORAS, DE MODO A EVITAR A OCORRÊNCIA DE CONDENSAÇÃO E CONSEQUENTE CURTO-CIRCUITO.

1. Certifique-se de que o computador está desligado e o interruptor principal no painel traseiro do instrumento se encontra na posição OFF (Desligado).
2. Ligue o computador ao instrumento com o cabo de interface USB fornecido.
3. Insira o cabo de alimentação na tomada principal (com ligação à terra) que se encontra no painel traseiro do instrumento.
4. Todos os dispositivos ligados têm de estar aprovados e listados de acordo com a norma IEC 60950- 1 Segurança de Equipamento de Tecnologia de Informação ou com os padrões locais equivalentes.
5. Ligue o instrumento, utilizando o interruptor principal no painel traseiro do instrumento.



PRECAUÇÃO

O LEITOR INFINITE FOI TESTADO COM O CABO USB FORNECIDO. SE UTILIZAR OUTRO CABO USB, A TECAN AUSTRIA NÃO PODE GARANTIR O CORRETO DESEMPENHO DO INSTRUMENTO.



PRECAUÇÃO

NÃO SUBSTITUA OS FIOS AMOVÍVEIS DA FONTE DE ALIMENTAÇÃO PRINCIPAL POR FIOS COM CARACTERÍSTICAS INAPROPRIADAS.

4. Operar o instrumento

4.1 Introdução

O leitor Infinite é operado com um comando de software baseado num computador pessoal. O software **i-control** ou **Magellan** pode ser utilizado como interface do utilizador. Para mais detalhes, consulte o Manual de Instruções do respetivo software. Esta breve introdução serve para fornecer uma compreensão geral dos parâmetros e da operação do instrumento. As sugestões explicam como otimizar os parâmetros do instrumento para as suas aplicações.

Foram envidados todos os esforços para garantir que o instrumento funcionará corretamente, mesmo que os parâmetros predefinidos não sejam apropriados para uma aplicação específica, com uma exceção importante:



PRECAUÇÃO

AO COLOCAR UMA MICROPLACA NO TRANSPORTADOR DE PLACAS, CERTIFIQUE-SE SEMPRE DE QUE FOI SELECIONADO O FICHEIRO DE DEFINIÇÃO DA PLACA CORRETO (ALTURA DA PLACA) NO SOFTWARE, ANTES DE PROSSEGUIR.

A ALTURA MÁXIMA DA PLACA É DE 23 MM (INCLUINDO A TAMPA).



PRECAUÇÃO

ANTES DE INICIAR MEDIÇÕES, CERTIFIQUE-SE DE QUE A POSIÇÃO A1 DA MICROPLACA ESTÁ INSERIDA CORRETAMENTE. A POSIÇÃO DO POÇO A1 TEM DE SE SITUAR NO LADO ESQUERDO SUPERIOR.



PRECAUÇÃO

NO CASO DE SUJIDADE EXCESSIVA DO TRANSPORTADOR DE PLACAS, O MECANISMO DE MOLA PODE NÃO FUNCIONAR ADEQUADAMENTE, RESULTANDO NUM POSICIONAMENTO INCORRETO. CONTACTE O SEU CENTRO DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA LOCAL.



PRECAUÇÃO

DURANTE A OPERAÇÃO DO LEITOR INFINITE, SIGA SEMPRE AS DIRETRIZES GLP.



PRECAUÇÃO

O LEITOR INFINITE TEM UMA VENTONHA NA PARTE TRASEIRA DO INSTRUMENTO QUE ASPIRA AR. O FILTRO DO AR TEM DE SER VERIFICADO A CADA 4 SEMANAS E SUBSTITUÍDO QUANDO ESTIVER SUJO. O FILTRO DO AR TEM DE SER SUBSTITUÍDO APÓS 6 MESES.

4.2 Características operacionais gerais

O leitor Infinite apresenta um comportamento geral e opções que são independentes de uma técnica de medição selecionada em particular.

4.2.1 Arranque do instrumento

Antes de ligar o instrumento, verifique se o cabo de interface USB está conectado.

Ligar o instrumento à corrente

Ao ligar o instrumento à corrente, não são realizados quaisquer passos de inicialização.

Conectar ao instrumento

Quando o software se conecta ao instrumento, é estabelecida a comunicação entre o instrumento e a interface do utilizador.

São realizados os seguintes passos:

- As rodas de filtros OS são inicializadas (apenas configurações M).
- A roda de filtros de luminescência é inicializada.
- O transporte Z da ótica de luminescência é inicializado.
- O transporte de placas é inicializado.
(O transporte de placas não é retirado automaticamente.)
- As versões atuais de firmware e software são apresentadas.
- O instrumento está pronto a ser utilizado.

4.3 Opções gerais

As opções que se seguem podem ser selecionadas independentemente da técnica de medição específica.



Nota

Para manter a temperatura num nível constante e garantir uniformidade ao longo da placa, a placa tem de ser colocada na posição de incubação.

Quando a função de aquecimento é utilizada durante a agitação, a temperatura pode variar ligeiramente.

Controlo de temperatura

Alguns ensaios requerem uma temperatura exata de funcionamento. O leitor Infinite pode definir uma temperatura específica dentro de um intervalo específico, garantir uniformidade ao longo da placa e manter a temperatura constante acima da temperatura ambiente. As ventoinhas de arrefecimento principais param a ventilação.

O aquecimento da câmara de medição demorará algum tempo. Verifique o display do controlo de temperatura. Se não estiver incubada externamente, a microplaca deve ser deixada para equilíbrio antes de se iniciar a medição.

Intervalo de temperatura: 5 °C acima da temperatura ambiente até 42 °C.

Medições cinéticas

O i-control permite medir uma placa repetidamente em intervalos de tempo equidistantes. O sinal de fluorescência pode diminuir consideravelmente por um período de tempo mais longo, especialmente quando são utilizados volumes baixos. Dependendo da quantidade de evaporação, o menisco desloca-se para uma posição mais baixa, dando lugar a condições ligeiramente desfocadas. Geralmente, os poços no canto evaporam mais rápido, depois aqueles perto dos bordos da microplaca. Durante a medição de fluorescência, pode também verificar-se uma diminuição do sinal resultante do fotobranqueamento.

Agitação da microplaca

O leitor Infinite dispõe de dois modos de agitação: linear e orbital. A amplitude de agitação pode ser selecionada de 1 a 6 mm, em frações de 0,5 mm. A frequência é uma função da amplitude. A duração de agitação pode ser selecionada de 1 a 1000 s.

Multimarcação

O software **i-control** possui uma função de multimarcação básica. Podem ser editados até quatro conjuntos de parâmetros do instrumento. As medições de placa correspondentes são executadas pela ordem selecionada. Por exemplo, quando é utilizada mais de uma marca fluorescente, é possível selecionar diferentes combinações de filtros. Uma medição de multimarcação pode ser definida utilizando uma tira de placa com/sem uma tira de **parte da placa** e até 10 tiras de medição (comprimento de onda fixo de absorvância, digitalização de absorvância, intensidade de fluorescência, digitalização de intensidade de fluorescência, luminescência).

4.4 Definição de tabuleiros dos filtros (configurações F do Infinite)

4.4.1 Acerca dos filtros

Filtros de fluorescência

Os filtros óticos (estilo banda passante) num tabuleiro do filtro foram concebidos especialmente para medições de fluorescência. A rejeição espectral e a largura de banda dos filtros de fluorescência são otimizadas para obter uma excelente sensibilidade.

Contacte a TECAN para filtros diferentes dos equipados nos tabuleiros dos filtros fornecidos.

Filtros de absorvância

Os filtros de banda passante comumente utilizados em leitores de microplacas para medições de absorvância, possuem geralmente uma largura de banda de 10 nm. Por conseguinte, não é aconselhável usar filtros de fluorescência para medições de absorvância porque a largura de banda (FWHM) é geralmente superior a 10 nm. Isso pode causar um erro nítido do valor ou valores OD baixos ao medir corantes com picos estreitos.

4.4.2 Tabuleiro do filtro e orientação do filtro

Tabuleiro do filtro

O tabuleiro do filtro das configurações F do Infinite é composto para uma parte de excitação e uma de emissão. O tabuleiro do filtro permite ao utilizador trabalhar com quatro pares de filtros de excitação/emissão independentes, que podem ser definidos nas posições de 1 a 4. As informações acerca dos filtros inseridos estão guardadas no microchip integrado.

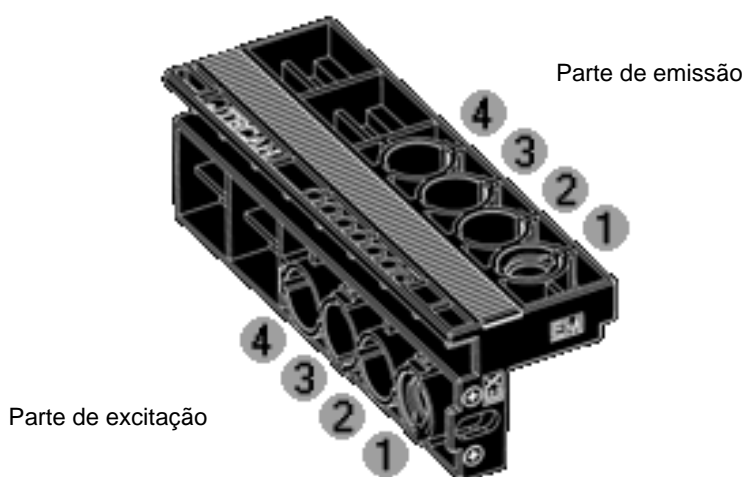


Figura 23: Configurações F do Infinite: Tabuleiro do filtro

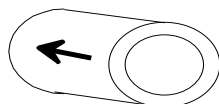
Tipos de filtros



PRECAUÇÃO

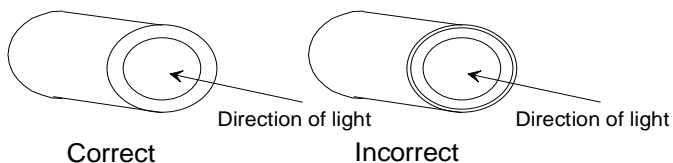
EXISTEM DOIS TIPOS DE FILTROS. É IMPORTANTE QUE A LUZ ATRAVESSE AMBOS OS TIPOS DE FILTROS NA DIREÇÃO CORRETA. ANTES DE INSERIR UM NOVO FILTRO, ANALISE ATENTAMENTE O FILTRO E A DIREÇÃO DA LUZ ATRAVÉS DO TABULEIRO DO FILTRO.

Filtros com uma seta de lado:



A luz tem de seguir a direção da seta.

Filtros sem seta de lado:



A extremidade do filtro com o bordo de metal tem de estar virada para o lado oposto da fonte de luz.

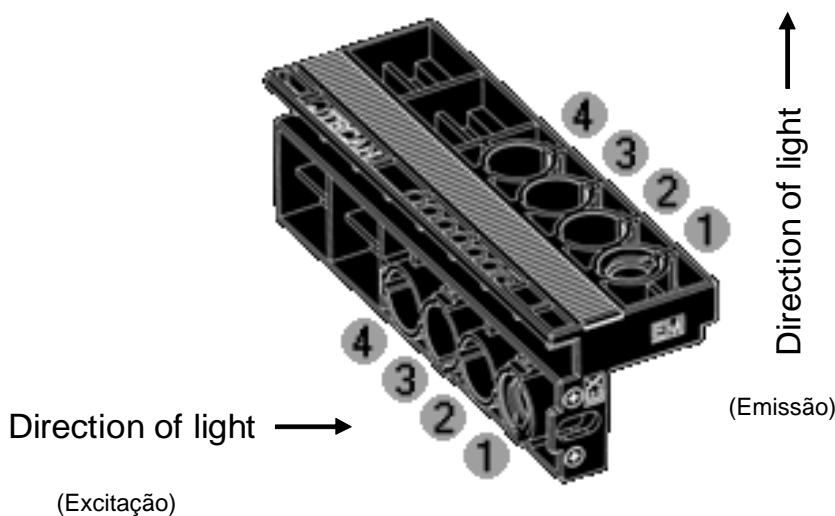


Figura 24: Configurações F do Infinite: Tabuleiro do filtro - Direção da luz

Posição dos filtros de polarização



Nota

As medições de polarização de fluorescência no Infinite F Plex requerem dois filtros de excitação e emissão idênticos colocados juntamente com os polarizadores nas posições 1 e 2 ou 3 e 4.

O tabuleiro do filtro Infinite F Plex pode ser equipado com um máximo de dois pares de filtros de polarização de fluorescência diferentes, uma vez que cada medição de polarização de fluorescência requer dois filtros de excitação e emissão idênticos, que são colocados juntamente com os polarizadores na posição 1 e 2 ou 3 e 4.

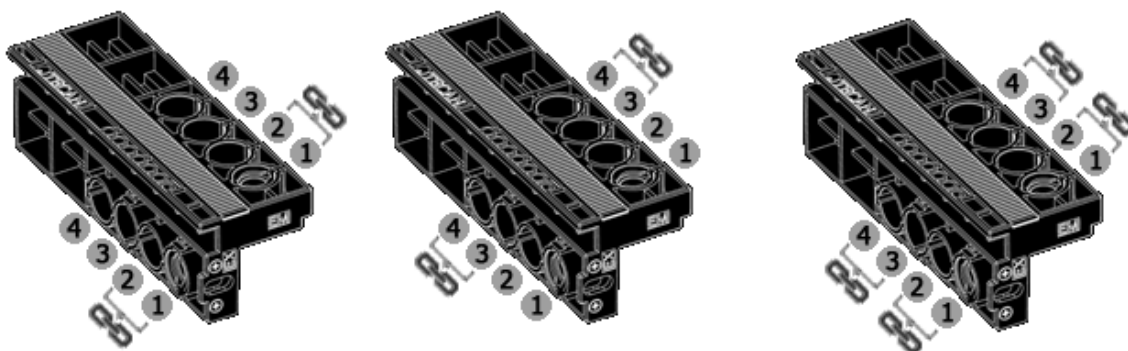


Figura 25: Infinite F Plex: Tabuleiro do filtro com as posições indicadas para filtros de polarização de fluorescência e polarizadores.

4.4.3 Instalação de um filtro personalizado

Quando instalar um novo filtro, utilize a ferramenta de montagem dos filtros incluída na caixa de acessórios. Para instalar os polarizadores, utilize as pinças flexíveis (plástico).

Remoção de um filtro

Alinhe a ferramenta de montagem dos filtros com o entalhe do anel de retenção. Rode a ferramenta e remova o anel de retenção, puxando-o para fora da ranhura do filtro.



Anel de retenção

O filtro sai da respetiva ranhura quando o transportador de filtros é virado. Não utilize a ferramenta de montagem dos filtros para remover filtros.

Montagem de um filtro personalizado

É necessário inserir um novo filtro (e polarizador) no tabuleiro, tal como apresentado abaixo.



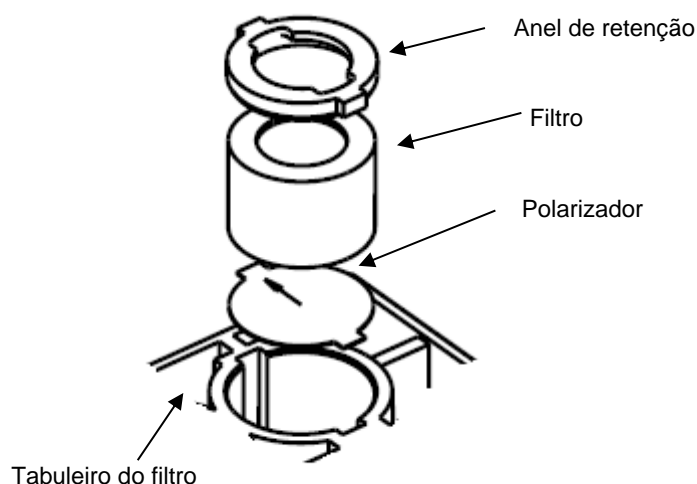
Nota

Certifique-se de que os filtros são inseridos corretamente (ver tipos de filtros). Para garantir um funcionamento adequado, não reutilize os anéis de retenção mais do que 5 vezes.



PRECAUÇÃO

NÃO SE ESQUEÇA DE INSERIR OS POLARIZADORES E OS FILTROS NO TABULEIRO DO FILTRO QUANDO ESTIVER A TRABALHAR COM A POLARIZAÇÃO DE FLUORESCÊNCIA.



PRECAUÇÃO

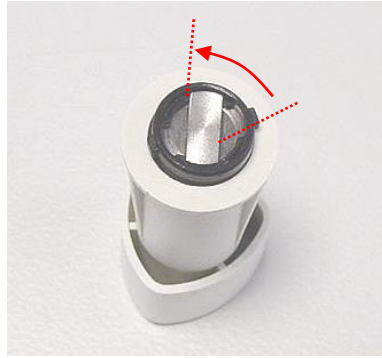
OS FILTROS SÃO COMPONENTES ÓTICOS DE PRECISÃO QUE DEVEM SER SEGURADOS PELAS PONTAS E NÃO DEVEM SER RISCADOS OU GUARDADOS VIRADOS PARA BAIXO NUMA GAVETA. DEPOIS DE INSTALADOS NO TABULEIRO, OS FILTROS FICAM RELATIVAMENTE BEM PROTEGIDOS, MAS TEM DE SE TER CUIDADO AO MANUSEÁ-LOS OU GUARDÁ-LOS.

Para instalar um filtro personalizado, proceda da seguinte forma:

Se necessário, insira cuidadosamente um polarizador na metade de excitação e emissão do tabuleiro do filtro com ajuda de pinças, prestando atenção para não o riscar ou deixar impressões digitais.

Insira cuidadosamente o filtro na abertura, prestando atenção para não o riscar ou deixar impressões digitais.

Coloque o anel de retenção na extremidade da ferramenta de montagem dos filtros e rode-o para que não possa deslizar.



Ferramenta de montagem dos filtros
com anel de retenção

Com a ferramenta de montagem dos filtros, empurre o anel de retenção para dentro da ranhura do filtro, até ficar fixo no sítio.

Rode a ferramenta, até o entalhe no anel de retenção ficar alinhado com a extremidade da ferramenta de montagem dos filtros e remova-a.

Se restarem aberturas por utilizar depois da inserção dos filtros necessários (p. ex., a parte de emissão de um filtro de absorvância), devem ser montados filtros fictícios nos buracos não ocupados.

4.4.4 Definição dos filtros



PRECAUÇÃO

QUALQUER ALTERAÇÃO NOS FILTROS TEM DE SER REALIZADA POR PESSOAL QUALIFICADO! O INSTRUMENTO É CAPAZ DE RECONHECER TABULEIROS DO FILTRO PREDEFINIDOS E NÃO SE DEVE TENTAR ALTERAR OS VALORES DO FILTRO.

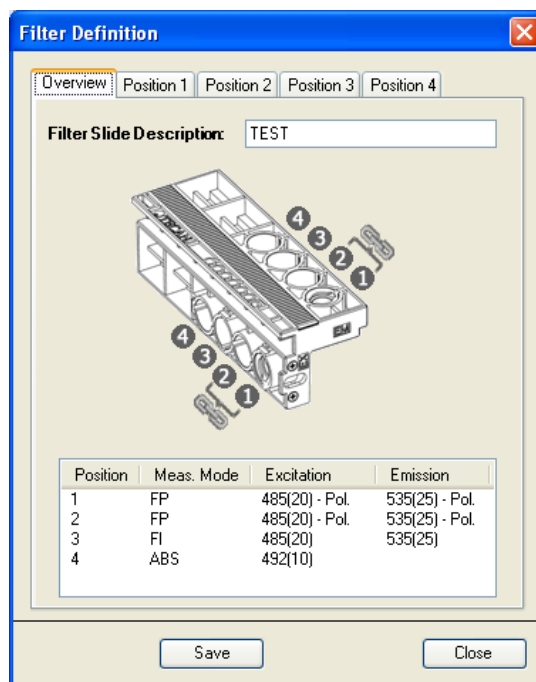
PORÉM, SE OS FILTROS NO RESPECTIVO TABULEIRO TIVEREM SIDO MUDADOS (POR UM TÉCNICO DE REPARAÇÕES) OU SE FOR NECESSÁRIO USAR UM NOVO FILTRO PERSONALIZADO INDEFINIDO, OS TABULEIROS DO FILTRO DEVEM SER DEFINIDOS.*

***DEPENDENDO DA FREQUÊNCIA DE UTILIZAÇÃO E DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS, OS FILTROS ÓTICOS PODEM DETERIORAR-SE COM O TEMPO, TENDO, POR ISSO, UMA VIDA ÚTIL LIMITADA.**

Defina um filtro (par) como se segue:

Selecione Filter Definitions (Definições do filtro) no menu Settings (Definições).

Aparece a seguinte caixa de diálogo com um separador da visão geral e quatro separadores de definição de filtro:



Overview (Visão geral): A visão geral fornece ao cliente a definição atual do tabuleiro do filtro.

Filter Slide Description (Descrição do tabuleiro do filtro): Entre na descrição do tabuleiro do filtro ou a descrição do tabuleiro do filtro será gerada automaticamente.



Nota

Para a descrição do tabuleiro do filtro, não são permitidos caracteres especiais (espaço, ?, \$, %, ., /, etc.), exceto _.



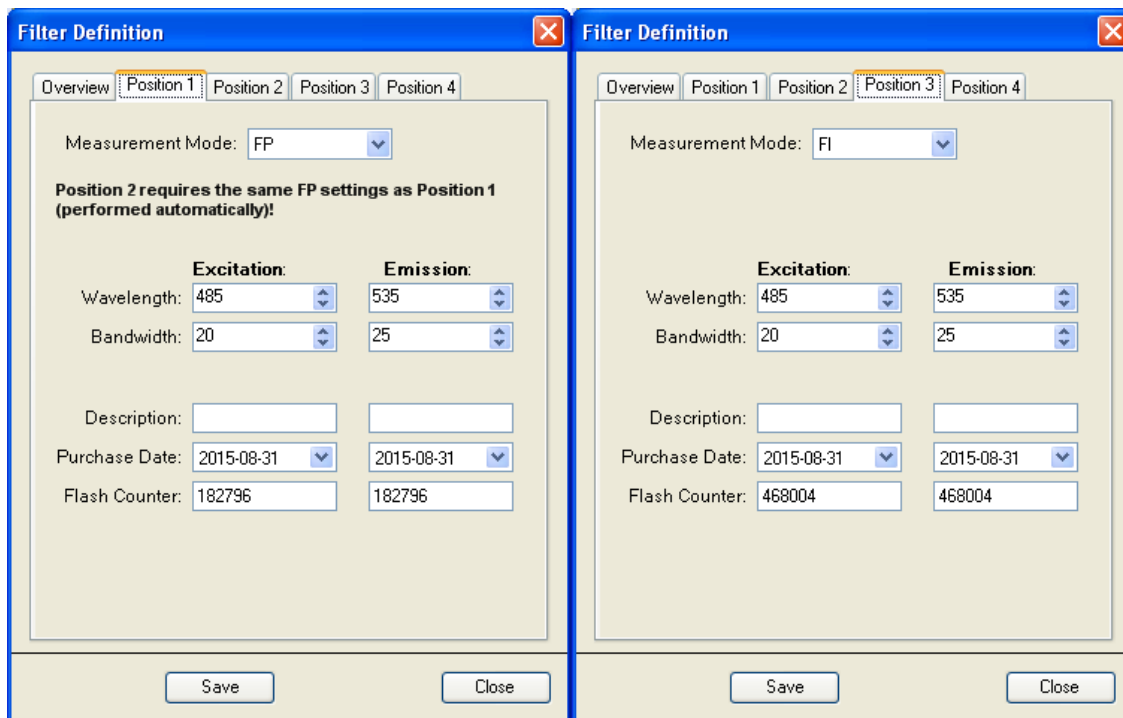
PRECAUÇÃO

A DESCRIÇÃO DO TABULEIRO DO FILTRO FAZ PARTE DO VALOR CHAVE DO FATOR G. SE FOR INTRODUZIDO MANUALMENTE, EVITE UTILIZAR A MESMA DESCRIÇÃO PARA OS DIFERENTES TABULEIROS DO FILTRO.

Position 1 - 4 (Posição 1 - 4): Editor de definição de filtro para os filtros (pares de filtros) nas posições 1, 2, 3 e 4.

Selecione a posição de filtro apropriada e introduza o novo comprimento de onda, a largura da banda e o modo de medição para cada filtro novo:

Measurement Mode (Modo de medição): selecione, da lista pendente, **FI** para intensidade de fluorescência, **ABS** para absorvância, **FP** para polarização de fluorescência e **Empty** (Vazio) para posições sem filtro



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

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



Nota

O modo de polarização de fluorescência na Posição 1 requer as mesmas definições do filtro que na Posição 2 e vice-versa. O modo de polarização de fluorescência na Posição 3 requer as mesmas definições do filtro que na Posição 4 e vice-versa. Isto realiza-se automaticamente.



PRECAUÇÃO

CERTIFIQUE-SE DE QUE O TABULEIRO DO FILTRO CONTÉM POLARIZADORES COM OS FILTROS DEFINIDOS PARA A POLARIZAÇÃO DE FLUORESCÊNCIA.

Wavelength (Comprimento de onda): Introduza o comprimento de onda do filtro dentro da seguinte gama:

- (1) Modo de intensidade de fluorescência: 230 a 850 nm (excitação) e 280 a 850 nm (emissão)
- (2) Polarização de fluorescência: 300 a 850 nm (excitação) e 330 a 850 nm (emissão)
- (3) Modo de absorvância: 230 a 1000 nm

Largura de banda: Introduza a largura da banda (nm) do filtro

(4) Aceite os novos valores do filtro, clicando em **Save** (Guardar). Depois de fechar a caixa de diálogo de definição de filtro, o sistema está pronto para recolher dados com os novos filtros.

Descrição (Descrição): Este campo pode ser utilizado para observações individuais do utilizador acerca do filtro, p. ex., nome do filtro, aplicação, etc.



Nota

Para a descrição do tabuleiro do filtro, não são permitidos caracteres especiais (espaço, ?, \$, %, ,, /, etc.), exceto _.

Purchase Date (Data da compra): Esta opção permite ao utilizador introduzir a data da compra ou da instalação do filtro

Flash Counter (Contador de flash): O contador de flash monitoriza o número de flashes através de um filtro. O número do contador de flash apenas fornece ao utilizador informações adicionais acerca do filtro utilizado. O número do contador de flash é guardado no microchip do tabuleiro do filtro juntamente com outras informações acerca do filtro.

Se substituir um filtro, a respetiva informação perde-se, a não ser que o último número de flash do filtro seja documentado manualmente pelo utilizador.

No caso de um filtro completamente novo, coloque o contador em 0. No caso de um filtro previamente utilizado, introduza o último número de flash registado se este estiver disponível.



PRECAUÇÃO

É ACONSELHÁVEL APONTAR MANUALMENTE O ÚLTIMO NÚMERO DO CONTADOR DE FLASH ANTES DE SUBSTITUIR O FILTRO; CASO CONTRÁRIO, A INFORMAÇÃO PERDE-SE.



PRECAUÇÃO

NÃO INSIRA TABULEIROS DO FILTRO SE O INSTRUMENTO NÃO ESTIVER LIGADO E CONECTADO.

4.5 Otimização de medições de fluorescência

Os resultados de medição de fluorescência podem ser otimizados, por um lado, ajustando os parâmetros do instrumento e, por outro, selecionando materiais apropriados.

4.5.1 Parâmetros do instrumento

Definições do ganho

O sistema de detecção de fluorescência das configurações do Infinite utiliza uma conversão analógica/digital (ADC: Analog Digital Converter, conversor analógico digital) do sinal do PMT. A definição do ganho controla a amplificação do PMT durante a conversão da luz de fluorescência em corrente elétrica. O ADC necessita de uma gama de entrada adequada de corrente do PMT para, por um lado, fornecer uma relação sinal/ruído (S/N) apropriada e, por outro, linearidade. Por conseguinte, o ganho deve ser ajustado de modo que os poços da microplaca com concentração máxima forneçam as leituras mais altas possíveis. De seguida, a leitura de poços da microplaca com concentração mais baixa são separadas do fundo - desde que o nível de ruído de fundo o permita.



Nota

Se tiver sido atribuído OVER (Overflow - excesso de fluxo) a algum poço, poderá reduzir manualmente o ganho ou selecionar uma opção de ganho automático (consulte o Manual de Instruções do software).

Propriedades do PMT

O ganho para a intensidade de fluorescência pode ser selecionado de 1 a 255. O desempenho do PMT depende da voltagem de alimentação. Os PMT do leitor Infinite estão especificados para uma tensão de 300 a 1250 V. A relação entre as definições do ganho do leitor Infinite e a alimentação da voltagem está descrita na Equação 1. Por conseguinte, o âmbito de utilização do PMT do leitor Infinite está especificado para definições do ganho de 60 a 255. São possíveis definições do ganho abaixo de 60, mas o desempenho do PMT não está especificado para uma alimentação da voltagem < 300 V. Por isso, a Tecan não assume qualquer responsabilidade pelos resultados de medição do leitor Infinite quando forem utilizadas definições do ganho inferiores a 60.

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

U é a voltagem, Gain (ganho) a definição do ganho selecionada, 255 o ganho máximo possível e 1250 V a alimentação da voltagem máxima do PMT.

Exemplo:

Um ganho de 100 corresponde a uma alimentação de voltagem de 490 V:

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

4.5.2 Otimização Z (medições FI do topo apenas com configurações M do Infinite)

Uma função útil das configurações **M do Infinite** é o processo de otimização Z. A otimização Z só está disponível para medições FI do topo com as configurações M do Infinite. Para um ensaio particular, este processo deve ser realizado uma vez para determinar a distância ótima de trabalho entre a amostra na placa e a ótica de fluorescência.

A posição Z pode ser determinada da seguinte forma:

(1) **Manual:**

Ao utilizar a opção **manual**, pode introduzir-se uma posição Z numérica na tira de medição. A posição Z predefinida é 20000 μm .

(2) **Calculated from well (Calculado a partir do poço):**

Ao utilizar a opção **calculated from well** (calculado a partir do poço), as configurações **M do Infinite** identificarão automaticamente a posição Z do sinal máximo no poço selecionado para medições posteriores.

(3) **Same as** (Igual a) para medições de multimarcação:

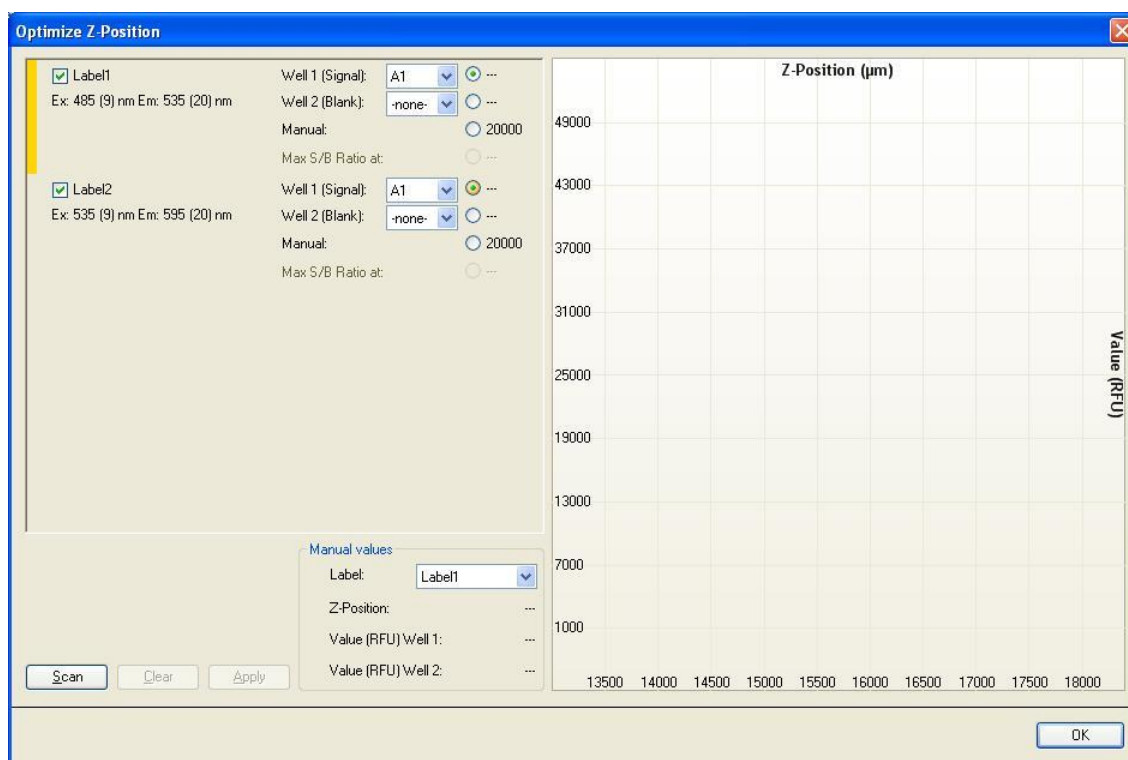
Ao utilizar a opção **same as** (igual a), as configurações **M do Infinite** utilizarão automaticamente a mesma posição Z utilizada para uma marca previamente definida.

P. ex., num script com 2 marcas FI do topo designadas por Marca 1 e Marca 2, a posição Z da Marca 1 também pode ser usada para a Marca 2, selecionando a opção **Same as = Label 1** (Igual a = Marca 1).

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

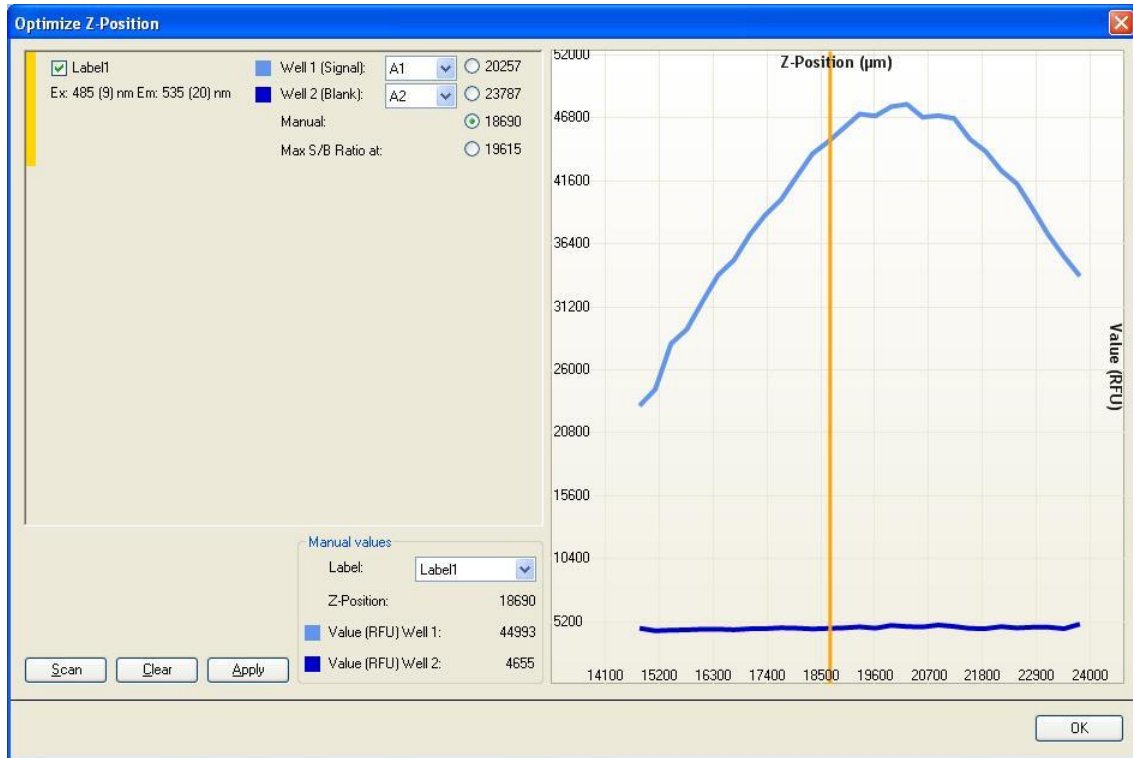
Ao utilizar a função **Z-position** (Posição Z) no menu do instrumento, o utilizador pode determinar a posição Z apropriada de um gráfico que indica o(s) poço(s) utilizado(s) para o posicionamento Z. O valor selecionado é aplicado em medições posteriores.

Selecione **Z-Position** (Posição Z) no menu **Instrument** (Instrumento):

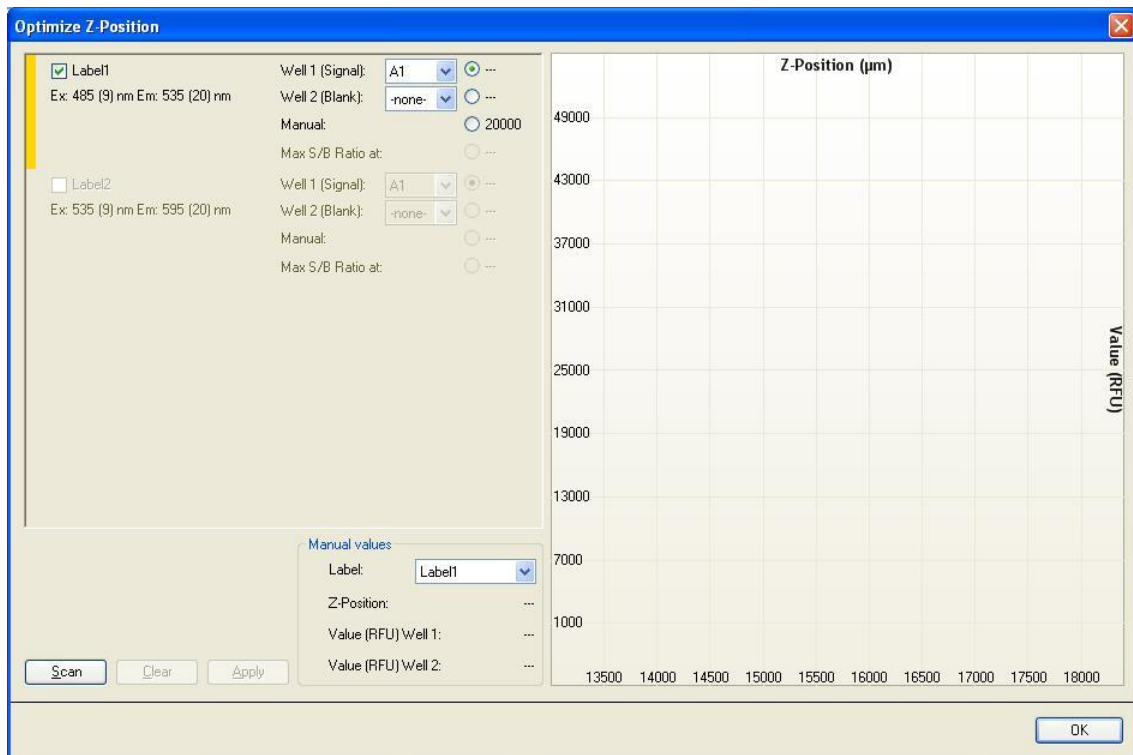


Selecione a(s) marca(s) para a(s) qual/ quais deve ser realizada a otimização da posição Z. A posição Z ótima pode ser determinada simultaneamente para um máximo de 4 marcas.

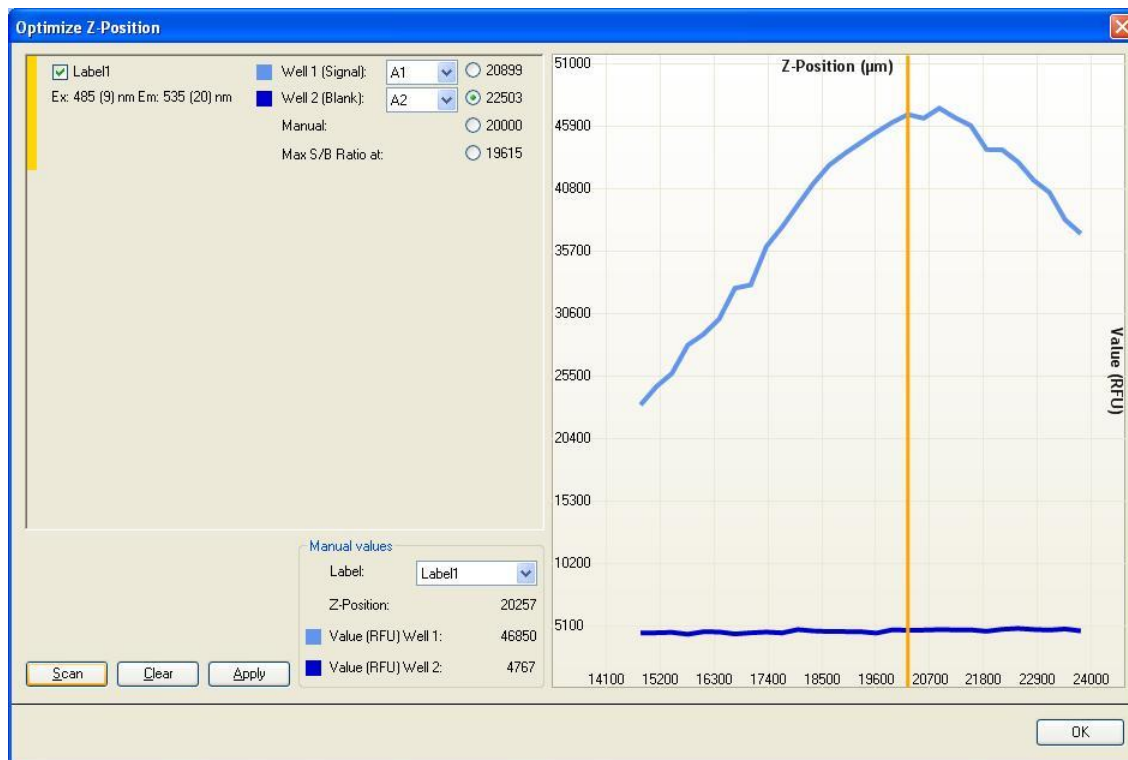
A seleção de marca/número de marcas depende do script de medição previamente definido no i-control. Adicionalmente, se a posição Z de uma das marcas estiver definida como **Same as** (Iguar a), a marca será apresentada, mas não poderá ser selecionada para a otimização Z:



Para cada marca selecionada, um ou dois poços da gama de placas definida pode ser utilizado para a otimização da posição Z. Selecione o(s) poço(s) e clique em **Scan** (Digitalizar) para iniciar a otimização Z:



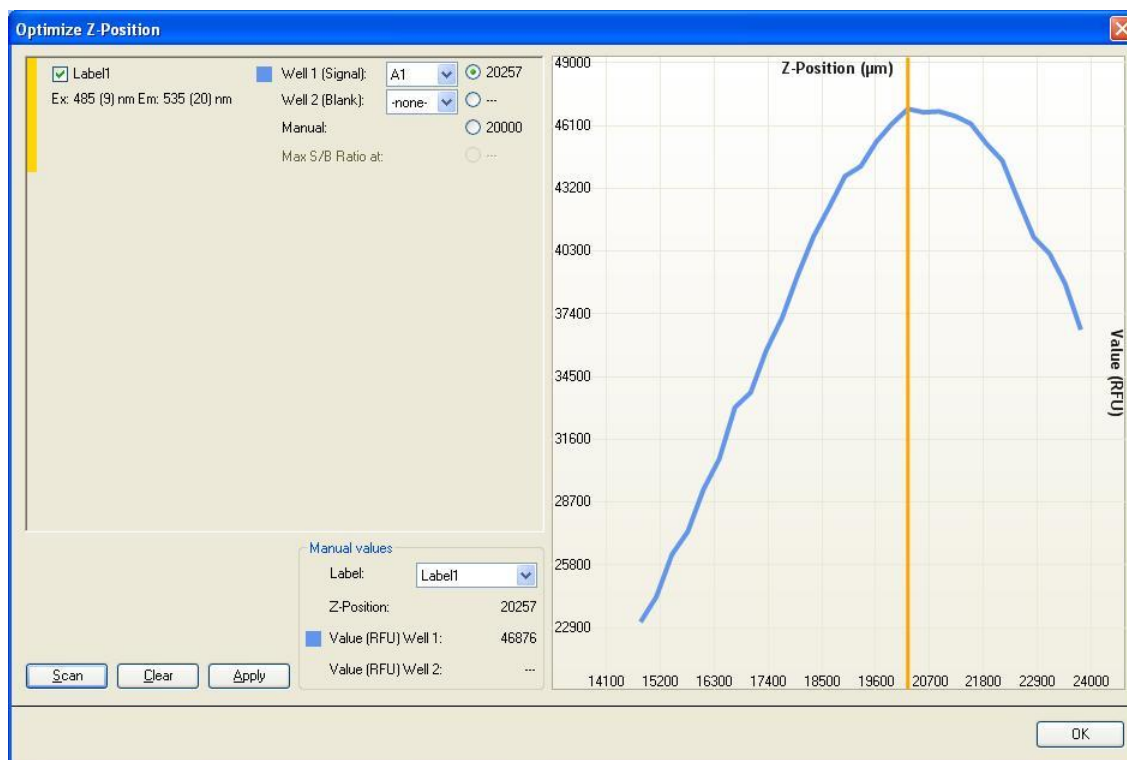
A opção de posicionamento Z **Max S/B Ratio** (Relação S/B máx.) requer a medição de dois poços, um cheio de fluoróforo (sinal) e outro cheio de amortecedor (branco). Ambos os poços são lidos e as curvas de sinal e de branco obtidas são apresentadas no gráfico. A posição Z pode agora ser ajustada para a relação sinal/branco máxima:



Nota

Quando é utilizada a opção Max S/B Ratio (Relação S/B máx.), o poço de amostras é primeiro medido com ganho ótimo e depois o mesmo valor do ganho é aplicado à segunda medição com o poço de branco. Por conseguinte, ambas as curvas de sinal e branco são diretamente comparáveis.

A posição Z para cada marca seleccionada pode ser definida manualmente. Na janela do gráfico, a barra vertical amarela pode ser movida para a posição Z desejada.



Ao clicar em **Apply** (Aplicar), a posição Z selecionada será automaticamente aplicada ao script do i-control e utilizada para a medição subsequente.

Definições de flash

São possíveis medições na hora com 1 flash (leitura) por poço para todos os tipos de placas; contudo, a precisão da medição com baixos níveis de luminosidade depende do tempo de leitura durante a recepção do sinal de fluorescência.



Nota

Aumente o número de flashes (leituras) por poço, até o ruído dos poços de BRANCO não melhorar mais ou até o tempo de medição por poço ficar inaceitável.

Para uma fluorescência imediata, não é útil aumentar o tempo de integração predefinido, porque o detector não receberá mais sinal depois de o flash desaparecer.

Parâmetros de sincronização para fluorescência resolvida no tempo

Para a TRF, os parâmetros de integração do sinal devem ser ajustados de acordo com a marca. O início do tempo de integração do sinal é retardado em relação ao flash anterior (atraso). Os parâmetros de sincronização da TRF podem ser definidos com o seguinte procedimento:

Como ponto de partida, pode utilizar o tempo de vida de fluorescência da marca tanto para o tempo de integração como o atraso.

Ajuste bruto: Com um tempo de integração fixo, o atraso é reduzido para maximizar a relação sinal/fundo (S/B).

Ajuste fino: Com o atraso fixo, o tempo de integração é aumentado e verifica-se se a relação S/B melhora.

Ajuste fino opcional: Com um dos parâmetros de sincronização fixo, pode variar o outro e verificar se a relação S/B melhora.

Tempo de repouso

Antes da medição de um poço, pode definir-se um tempo de repouso. Devido ao movimento de paragem e de continuação do transportador de placas, o menisco do líquido distribuído ainda pode vibrar enquanto o sinal é integrado. Isso pode originar flutuações dos valores medidos. O efeito foi observado em poços de placas de 96 poços e poços maiores. Isto é particularmente crítico em medições de absorvância.

4.5.3 Modo de relação FI

Modo de relação

Podem ser medidas até 4 marcas por poço. Este modo de medição chama-se **modo de relação**. Tenha em conta que não se realizará qualquer cálculo de **relação** após esta medição. A folha de resultados Excel indica os dados brutos. O utilizador tem de realizar os cálculos posteriores.

Tempo de comutação de filtro (configurações F do Infinite)/tempo de comutação de comprimento de onda (configurações M do Infinite)

As configurações F do Infinite podem comutar entre dois filtros no espaço de 250 ms no caso de as marcas selecionadas serem medidas com o mesmo ganho. Caso contrário, o tempo de comutação é de 400 ms. Neste caso, o nível de alta voltagem no PMT tem de ser alterado. A alta voltagem aplicada ao PMT precisa de algum tempo para estabilizar.

As configurações M do Infinite podem comutar entre dois comprimentos de onda no espaço de 150 ms no caso de as marcas selecionadas serem medidas com o mesmo ganho e não estar envolvido qualquer ponto de comutação ótico (OS) (consulte Tabela 1: para pontos de comutação). Caso contrário, o tempo de comutação é de 400 ms. Neste caso, o nível de alta voltagem no PMT tem de ser alterado. A alta voltagem aplicada ao PMT precisa de algum tempo para estabilizar. A roda de filtros OS tem de ser movida.

	Comprimento de onda de excitação	Comprimento de onda de emissão
Ponto de comutação OSF 1	316 nm	401 nm
Ponto de comutação OSF 2	386 nm	621 nm
Ponto de comutação OSF 3	561 nm	-

Tabela 1: Pontos de comutação OSF (filtro ótico) (configurações M do Infinite)

Exemplo:

Fura-2: Esta aplicação implica uma comutação de filtro/comprimento de onda entre 340 e 380 nm no lado de excitação. A emissão é medida a cerca de 510 nm. A comutação de filtro/comprimento de onda de excitação não inclui uma comutação OS; por conseguinte, a comutação é possível no espaço de 150 ms numa configuração M do Infinite e de 250 ms numa configuração F do Infinite.

4.6 Medições FP

4.6.1 Polarização de fluorescência

A polarização de fluorescência (FP, P) é definida pela seguinte equação:

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

Equação 3:

I_{\parallel} e I_{\perp} são iguais à intensidade de emissão da luz polarizada paralela e perpendicular ao plano de excitação, respetivamente. A polarização é uma unidade sem dimensão, geralmente expressa em unidades mP.

Para iniciar uma medição FP, a tira de programa tem de conter uma **Blank range** (Gama de branco) da medição válida e definições **G-Factor** (Fator G) válidas.

4.6.2 Gama de branco da medição

A redução em branco da medição realiza-se automaticamente em cada medição de polarização de fluorescência; o valor médio dos respetivos poços de branco será subtraído de cada valor de amostra (ver 4.6.8).

Na caixa de grupo **Measurement** (Medição), seleccione a **Blank range** (Gama de branco), clicando em **Change** (Alterar) e depois seleccionando os poços cheios de branco de medição (amostra).

4.6.3 Definições de fator G

A equação dada para o cálculo da polarização de fluorescência assume que a sensibilidade do sistema de deteção é equivalente para a luz polarizada paralela e perpendicular. Isto geralmente não se aplica e a intensidade paralela ou perpendicular tem de ser corrigida pelo **fator G**. O fator G compensa diferenças em componentes óticos entre a medição paralela e perpendicular.

O fator G é o fator de correção que pode ser determinado para o comprimento de onda do fluoróforo, medindo uma amostra com um valor de polarização conhecido. Uma calibração válida do instrumento que resulte num fator G é um requisito importante para cada medição de polarização de fluorescência.



PRECAUÇÃO

CERTIFIQUE-SE DE QUE O TABULEIRO DO FILTRO CONTÉM POLARIZADORES COM OS FILTROS DEFINIDOS PARA A POLARIZAÇÃO DE FLUORESCÊNCIA. AS MEDIÇÕES SEM OS POLARIZADORES RESULTARÃO NUM FATOR G FALSO E EM DADOS DE MEDIÇÃO FALSOS.

4.6.4 Medição com um fator G não calibrado

Se não estiver disponível nenhum fator G calibrado, o valor predefinido de 1 será apresentado e marcado como **Uncalibrated G-Factor** (Fator G não calibrado). Para ativar a medição, confirme este valor ou selecione um novo, clicando nas setas para cima e para baixo ou introduzindo um valor no campo **G-Factor** (Fator G).

Para a calibração do fator G, consulte 4.6.5.

4.6.5 Medição com uma calibração simultânea do fator G

Quando está selecionado **Calibrate** (Calibrar), o fator G é determinado para os atuais parâmetros de medição e utilizado para a medição FP seguinte. Para realizar a calibração do fator G, defina:

Reference value (Valor de referência): selecione um valor de polarização para a referência usada, p. ex., 20 mP para uma solução de fluoresceína de 1 nM em 0,01 M de NaOH.

Reference range (Gama de referência): clique em **Change** (Alterar) e selecione os poços cheios com a referência.

Blank range (Gama de branco): clique em **Change** (Alterar) e selecione os poços cheios de branco de referência. Selecione **Same as measurement blank** (Igual ao branco de medição) se o branco de referência for o mesmo que o branco de medição.



Nota

Ao encher mais do que um poço com referências de polarização e brancos de referência, os valores médios serão calculados e, por conseguinte, o resultado da calibração será mais exato.

Armazenamento do fator G

O fator G calculado é automaticamente armazenado no disco rígido do computador. Cada entrada do fator G corresponde à seleção do par de filtros, bem como à descrição do tabuleiro do filtro. Está sempre disponível apenas um fator G para a respectiva combinação de par de filtros e a descrição do tabuleiro do filtro, a não ser que o mesmo par de filtros foi utilizado com os diferentes tabuleiros do filtro e, assim, armazenado com as diferentes descrições do tabuleiro do filtro.



PRECAUÇÃO

A DESCRIÇÃO DO TABULEIRO DO FILTRO FAZ PARTE DO VALOR CHAVE DO FATOR G. EVITE UTILIZAR A MESMA DESCRIÇÃO DE TABULEIRO DO FILTRO PARA DIFERENTES TABULEIROS DO FILTRO, UMA VEZ QUE ISSO AFETARÁ A IDENTIFICAÇÃO CORRETA DO FATOR G.

4.6.6 Medição com um fator G calibrado



Nota

Depois de calibrado, o fator G é apresentado e pode ser imediatamente utilizado se corresponder ao par do comprimento de onda Ex/Em e à descrição do tabuleiro do filtro.

Um fator G calibrado só será apresentado automaticamente ou poderá ser carregado clicando no botão >> se corresponder ao par de filtros de fluorescência e à descrição do tabuleiro do filtro selecionados.

The screenshot shows the 'Fluorescence Polarization' control panel. Under 'Wavelength', Excitation is set to 485 (20) nm and Emission to 535 (25) nm. Under 'Read', Number of flashes is 25 and Settle time is 0 ms. Under 'Measurement', Blank range is A2:D2. Under 'G-Factor', the 'Manual' radio button is selected, and the G-Factor is 0.939. Below this, it says 'Calibrated G-Factor, 18.01.2010 by kaff1au'. The 'Optimal' radio button is selected under 'Gain'. A 'Show Details' button is at the bottom left.

O fator G calibrado está marcado como **Calibrated G-Factor** (Fator G calibrado) com data e assinatura.

4.6.7 Medição com um fator G manual

Se o fator G apresentado não corresponder ao valor calibrado (p. ex., o fator G foi alterado manualmente ou carregado com um método), o valor correspondente será marcado como **Manual G-Factor** (Fator G manual).

This screenshot is similar to the previous one, but the 'Manual' radio button under 'G-Factor' is selected, and the G-Factor value is 0.985. Below the value, it says 'Manual G-Factor'. The 'Optimal' radio button remains selected under 'Gain'.

O fator G calibrado pode ser restaurado clicando no botão >> do lado esquerdo do fator G apresentado.



Nota

O ajuste do fator G através do botão >> só é possível se estiver disponível um fator G calibrado para o comprimento de onda correspondente.

4.6.8 Cálculo de parâmetros de polarização de fluorescência

Fator 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

Redução em branco:

O valor médio dos respetivos poços de branco é subtraído 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:

As intensidades paralelas e perpendiculares são calculadas com as seguintes fórmulas:

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

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

Polarização:

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

Anisotropia:

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

Intensidade total:

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

4.7 Otimização de medições de absorvância

4.7.1 Parâmetros de medição

Definições de flash

São possíveis medições na hora com 1 flash (leitura) por poço para todos os tipos de placas; contudo, a precisão da medição com baixos níveis de luminosidade depende do tempo de leitura durante a recepção do sinal de fluorescência.



Nota

Aumente o número de flashes (leituras) por poço, até o ruído dos poços de BRANCO não melhorar mais ou até o tempo de medição por poço ficar inaceitável.

Tempo de repouso

Pode definir-se um tempo de repouso antes da medição de um poço (importante para medições de absorvância). Devido ao movimento de paragem e de continuação do transportador de placas, o menisco do líquido distribuído ainda pode vibrar enquanto o sinal é integrado. Isso pode originar flutuações dos valores medidos. O efeito foi observado em poços de placas de 96 poços e poços maiores.

4.7.2 Modo de relação de absorvância

Modo de relação

Com o separador **Standard** no i-control, podem ser medidas até 4 marcas por poço. Este modo de medição chama-se **modo de relação**. Tenha em conta que não se realizará qualquer cálculo de **relação** após esta medição. A folha de resultados Excel indica os dados brutos. O utilizador tem de realizar os cálculos posteriores.

Com o separador **Applications** (Aplicações) no i-control com a placa NanoQuant Plate, os dados brutos para **Quantifying Nucleic Acids** (Quantificação de ácidos nucleicos) e **Labeling Efficiency** (Eficácia de marcação) são todos automaticamente calculados para a concentração ou o cálculo da relação pelo software Excel. Os valores podem ser utilizados para outro cálculo, se preferir.

Tempo de comutação de comprimento de onda (configurações M do Infinite)/filtro (configurações F do Infinite)

As configurações F do Infinite podem comutar entre dois filtros adjacentes no espaço de 250 ms.

As configurações M do Infinite podem comutar entre dois comprimentos de onda no espaço de 150 ms.

Para as condições, consulte 4.5.3 Modo de relação FI.

4.8 Leituras múltiplas por poço

O software i-control permite a realização de leituras múltiplas por poço (MRW) no modo de absorvância, fluorescência do topo e fluorescência do fundo.

As funções de leituras múltiplas por poço podem ser ativadas numa tira de programa de intensidade de absorvância ou de fluorescência, selecionando a caixa de verificação **Multiple Reads per Well** (Leituras múltiplas por poço) (ver Figura 26 abaixo).

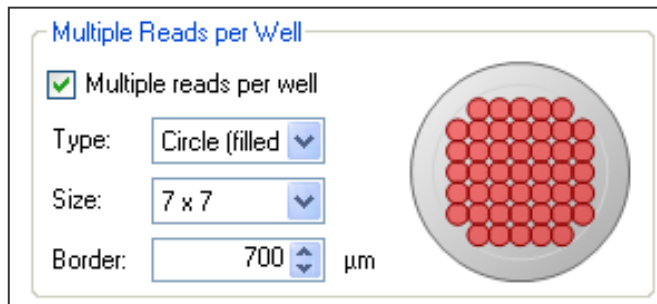


Figura 26: Leituras múltiplas por poço



Nota



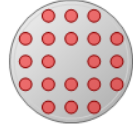

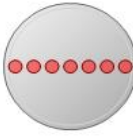
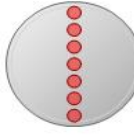
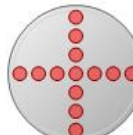
A função **Multiple Reads per Well** (Leituras múltiplas por poço) só está disponível para os modos de leitura de comprimento de onda fixo **absorvância**, **intensidade de fluorescência do topo** e **intensidade de fluorescência do fundo**. A função não está disponível para medições de digitalização.

4.8.1 Tipo MRW

Os tipos MRW definem o padrão segundo o qual a medição será realizada. O software permite selecionar sete tipos MRW diferentes:

- Quadrado
- Quadrado (preenchido)
- Círculo
- Círculo (preenchido)
- Linha X
- Linha Y
- Linha XY

Exemplos de padrões:

<p>Quadrado:</p> 	<p>Quadrado (preenchido):</p> 
<p>Círculo:</p> 	<p>Círculo (preenchido):</p> 
<p>Linha X:</p> 	<p>Linha Y:</p> 
<p>Linha XY:</p> 	

4.8.2 Tamanho MRW

O tamanho MRW determina o número de pontos a medir num poço. Dependendo do tipo de microplaca e do instrumento, das configurações F do Infinite ou configurações M do Infinite, o **tamanho** pode ser selecionado de 1 x 1 a um máximo de 15 x 15 pontos. O diâmetro dos pontos de medição individuais corresponde ao diâmetro calculado teoricamente do feixe de luz no ponto focal (ver Tabela 2).

Modo de medição	Configurações M do Infinite	Configurações F do Infinite
Intensidade de fluorescência do topo	3 mm	2 mm
Intensidade de fluorescência do fundo	2 mm	2 mm
Absorvância (ótica da microplaca)	0,7 mm	0,5 mm

Tabela 2: Diâmetro do feixe calculado teoricamente no ponto focal.

Por conseguinte, o tipo MRW apresentado no software é apenas uma visão geral esquemática do padrão de medição. Durante a medição de amostras reais, o padrão pode variar e a sobreposição dos pontos de medição individuais pode ser ligeiramente diferente do padrão apresentado. Por isso, é aconselhável otimizar os parâmetros de leituras múltiplas por poço para cada aplicação nova.

4.8.3 Borda MRW

Além do **Size** (Tamanho) e do **Type** (Tipo), uma função **Border** (Borda) permite ao utilizador seleccionar uma determinada distância entre o feixe de luz e a parede do poço da microplaca (distância em μm). Como já referido no capítulo 4.8.2, o software apenas apresenta uma visão geral esquemática do padrão de medição. A borda é calculada a partir do diâmetro teórico do feixe do instrumento. No entanto, ao medir amostras líquidas, o diâmetro do feixe de luz é influenciado pelo tipo e pela quantidade de líquido num poço.

Adicionalmente, o tipo de placa (p. ex., material do fundo da microplaca) também influencia as características do feixe de luz. Por isso, a borda teórica apresentada no software pode não corresponder à actual borda ao medir uma amostra real. Por conseguinte, é altamente aconselhável otimizar os parâmetros **Multiple Reads per Well** (Leituras múltiplas por poço) para cada aplicação nova. Certifique-se de que a borda seleccionada garante uma distância suficiente entre o feixe de luz e a parede do poço da microplaca.



PRECAUÇÃO

TODAS AS ESPECIFICAÇÕES DA INTENSIDADE DE ABSORVÂNCIA E DE FLUORESCÊNCIA CONSTANTES DESTES DOCUMENTOS APENAS SÃO VÁLIDAS PARA MEDIÇÕES DE PONTOS INDIVIDUAIS (UM PONTO DE MEDIÇÃO POR POÇO). DURANTE A UTILIZAÇÃO DA OPÇÃO DE LEITURAS MÚLTIPLAS POR POÇO, AS ESPECIFICAÇÕES NÃO SÃO VÁLIDAS.



PRECAUÇÃO

O SOFTWARE APENAS APRESENTA UMA VISTA ESQUEMÁTICA DO PADRÃO DE MEDIÇÃO. POR CONSEQUENTE, OTIMIZE OS PARÂMETROS DE LEITURAS MÚLTIPLAS POR POÇO PARA CADA APLICAÇÃO NOVA. CERTIFIQUE-SE DE QUE A BORDA SELECIONADA É SUFICIENTE PARA EVITAR UMA SOBREPOSIÇÃO ENTRE O FEIXE DE LUZ E A PAREDE DO POÇO DA MICROPLACA.



PRECAUÇÃO

UM VALOR DE BORDA DEMASIADO BAIXO PODE ORIGINAR RESULTADOS DE MEDIÇÃO INCORRETOS DEVIDO À SOBREPOSIÇÃO ENTRE O FEIXE DE LUZ E A PAREDE DO POÇO DA MICROPLACA.

4.8.4 Visualização de resultados no MS Excel

A folha de resultados MS Excel gerada pelo software i-control apresenta uma visão geral gráfica esquemática (**Multiple Reads per Well – Alignment** (Leituras múltiplas por poço – Alinhamento); ver Figura 28) dos pontos de medição. É atribuído um número a cada ponto de medição. Os resultados são apresentados sob a forma de uma lista: número do ponto de medição versus o valor do resultado (OD ou RFU; ver Figura 27: Gráfico de alinhamento (linha XY, 3 x 3) para o resultado de uma medição de fluorescência). Adicionalmente, também são apresentados o desvio padrão (**Stdev**) e o valor médio (**Mean**) dos pontos de medição/poço:

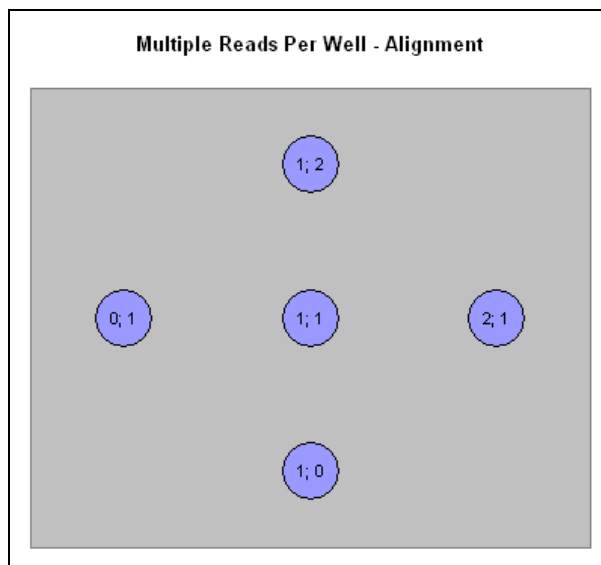


Figura 27: Gráfico de alinhamento (linha XY, 3 x 3)

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: Exemplo de lista de resultados MS Excel gerada pelo i-control.

4.8.5 Diversas funções do software de MRW

MRW apenas está disponível para os modos de medição **Absorvância**, **Intensidade de fluorescência do topo** e **Intensidade de fluorescência do fundo**.

A função MRW não está ativa durante a realização de medições por poço.

A função **Reference Wavelength** (Comprimento de onda de referência) (localizada na tira de absorvância) não está disponível em combinação com **Multiple Reads per Well** (Leituras múltiplas por poço).

4.9 Otimização de medições de luminescência



PRECAUÇÃO

LIGUE O INSTRUMENTO PELO MENOS 15 MINUTOS ANTES DE INICIAR UMA MEDIÇÃO DE LUMINESCÊNCIA. ALGUNS COMPONENTES TÊM DE AQUECER PARA GARANTIR CONDIÇÕES ESTÁVEIS PARA A MEDIÇÃO.

4.9.1 Tempo de integração

Com níveis de luminosidade muito baixos, um PMT não produz uma corrente de saída contínua, que é necessária para uma conversão analógica/digital fiável. Em vez disso, produz uma sequência de impulsos cuja taxa média pode ser medida com um contador. A vantagem da técnica de contagem de fóton com níveis de luminosidade tão baixos é que os critérios de seleção da altura de impulso permitem a diferenciação do ruído eletrónico.

Com níveis de luminosidade muito baixos, as contagens medidas por segundo são proporcionais à intensidade da luz. O aumento do tempo de medição por poço gera valores mais exatos devido ao impacto irregular dos fótons (estatística de fótons). O ruído fotónico (ruído de disparo) não pode ser reduzido tecnicamente.



Nota

A relação sinal/ruído (S/N) pode ser otimizada aumentando o tempo de integração. Aumentar o tempo de integração por um fator de 10 resulta numa melhoria da relação S/N de um fator de aprox. 3.

4.9.2 Atenuação do nível de luminosidade

Quando a deteção de contagem de fóton é utilizada, é necessária uma atenuação ótica dos níveis de luminosidade de luminescência mais elevados (>10,000,000 contagens por segundo). Nesse caso, demasiados fótons entram ao mesmo tempo no detetor de luminescência, não podendo ser distinguidos como impulsos de saída distintos. As taxas de contagem até descem abaixo de níveis de luminosidade mais baixos.

Por conseguinte, os valores >10,000,000 contagens por segundo (sem atenuação) são apresentados como **INVALID** (INVÁLIDO) na folha de resultados.

O sistema ótico de luminescência do leitor **Infinite** pode atenuar os níveis de luminosidade por um fator fixo de 1 (nenhum) ou 100 (2 OD). Paralelamente, a gama de medição utilizável será mudada para níveis de luminosidade mais elevados (< 1 000 000 000 contagens por segundo).

4.10 Medições com injetores

4.10.1 Expurgação e lavagem do leitor Infinite



PRECAUÇÃO

O TRANSPORTADOR DE INJETOR TEM DE ESTAR NA POSIÇÃO DE SERVIÇO PARA A LAVAGEM E EXPURGAÇÃO.
A EXPURGAÇÃO E A LAVAGEM NÃO PODEM SER EXECUTADAS COM O INJETOR DENTRO DO INSTRUMENTO!

A fase de enchimento inicial do sistema de injetor (expurgação), bem como a fase de limpeza do sistema de injetor (lavagem) têm de ocorrer fora do instrumento.

Para estes processos, o transportador de injetor está retirado do instrumento e colocado na posição de serviço da caixa de injetor.



Botões de expurgação/lavagem para os injetores A e B

Figura 29: Caixa de injetor com injetor na **posição de serviço**; os injetores estão retirados da ranhura do transportador e inseridos no suporte do sistema do transportador de injetor.

Para as fases de expurgação e de lavagem do sistema de injetor, é fornecida uma predefinição da velocidade de injeção e do volume distribuído. Se necessário, os parâmetros de expurgação podem ser ajustados na janela de controlo do injetor do software i-control.

O volume de expurgação depende do comprimento da tubagem. Estão disponíveis dois tipos de tubagens de injeção: **longa**: 105 cm, e **curta**: 80 cm.

O volume mínimo de expurgação é de 700 µl para um injetor com tubagem curta e 850 µl para um injetor com tubagem longa.



PRECAUÇÃO

NÃO TOQUE NAS AGULHAS DE INJETOR. PODEM FICAR FACILMENTE DOBRADAS OU DESALINHADAS, O QUE PODE CAUSAR PROBLEMAS DE INJEÇÃO OU DANOS NO INSTRUMENTO.

SE O TRANSPORTADOR DE INJETOR NÃO ESTIVER INSERIDO CORRETAMENTE NA PORTA DO INJETOR, O SENSOR DE INJETOR NÃO DETETARÁ O INJETOR INSERIDO E, POR CONSEQUENTE, A LAVAGEM E A EXPURGAÇÃO SERÃO ATIVADAS, PODENDO DANIFICAR O INSTRUMENTO. ALÉM DISSO, AS AÇÕES DE DISTRIBUIÇÃO E INJEÇÃO NÃO SERÃO POSSÍVEIS.

Expurgação

Antes de o sistema de injeção poder ser utilizado, é necessária uma fase de enchimento inicial (expurgação) para remover todo o ar e para encher totalmente o sistema de líquido.

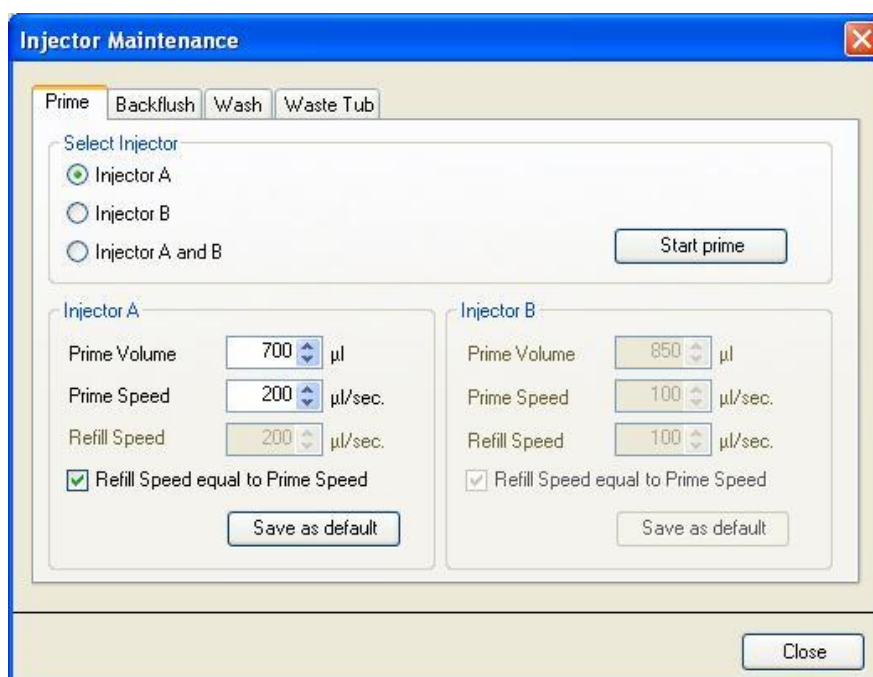
É aconselhável realizar uma fase de lavagem antes da expurgação.

A expurgação pode ser realizada utilizando o software i-control ou através dos botões de hardware na caixa de injetor:

1. Encha os frascos de armazenamento com os reagentes necessários e insira o(s) tubo(s) de alimentação. Certifique-se de que o(s) tubo(s) chega(m) ao fundo do frasco.
2. Retire o injetor da ranhura do transportador e insira-o na posição de serviço da caixa de injetor.
3. Coloque um contentor vazio por baixo do injetor.

Processo de expurgação (i-control):

1. Ajuste os parâmetros no **separador Prime** (Expurgar) da caixa de diálogo **Injector Maintenance** (Manutenção do injetor) no **menu Settings** (Definições).
2. Inicie o processo de expurgação, clicando em **Start prime** (Iniciar expurgação) na caixa de diálogo Injector Maintenance (Manutenção do injetor).
3. Verifique visualmente as seringas quanto a bolhas de ar. Todas as bolhas de ar devem ser removidas após a expurgação, para garantir um bom desempenho de injeção.



4. Selecione um dos injetores **Injector A** (Injetor A) ou **Injector B** (Injetor B) ou **Injector A and B** (Injetor A e B).
5. Selecione o **Prime Volume** (Volume de expurgação)
(700 -60000 µl – tubo curto)
(850 -60000 µl – tubo longo)
6. Selecione a **Prime Speed** (Velocidade de expurgação)
(100 - 300 µl/s).

7. Selecione a **Refill Speed** (Velocidade de reabastecimento) (100 – 300 μ /s) ou selecione **Refill Speed equal to Prime Speed** (Velocidade de reabastecimento igual a velocidade de expurgação).
8. Inicie a expurgação clicando no botão **Start prime** (Iniciar expurgação).
9. Clique no botão **Save as default** (Guardar como predefinição) para guardar as definições selecionadas no botão de hardware correspondente (A ou B) na caixa de injetor. Ao utilizar os botões de hardware para a expurgação, serão aplicadas estas definições.
10. Selecione **Close** (Fechar) para sair da caixa de diálogo.

Processo de expurgação (botão de hardware):

A expurgação também pode ser realizada sem utilizar o software. Os parâmetros de expurgação podem ser guardados no injetor, clicando **Save as Default** (Guardar como predefinição) no separador **Prime** (Expurgar) da caixa de diálogo **Injector Maintenance** (Manutenção do injetor) do software i-control (no menu **Settings** (Definições), clique em **Injectors...** (Injetores...)) e aparece a caixa de diálogo **Injector Maintenance** (Manutenção do injetor)). Prima o botão **Prime/Wash** (Expurgar/Lavar) na caixa de injetor para iniciar a sequência de expurgação utilizando os parâmetros predefinidos, (ver Figura 29: Caixa de injetor com injetor **na posição de serviço**, página 79). O injetor tem de estar conectado ao instrumento e o instrumento tem de estar ligado. Inicie o processo de expurgação premindo o botão **Prime/Wash** (Expurgar/Lavar) durante menos de 3 segundos.

Verifique visualmente as seringas quanto a bolhas de ar. Todas as bolhas de ar devem ser removidas após a expurgação, para garantir um bom desempenho de injeção.

Após um processo de expurgação bem-sucedido, reintroduza o injetor no instrumento. Feche totalmente a tampa do módulo da bomba antes de iniciar uma medição. Os injetores estão agora prontos a utilizar.

Ao iniciar uma medição com as ações de **injeção** ou **distribuição**, são distribuídos 5 μ l de líquido para um contentor descartável no transportador de placas, antes do início da **injeção** ou **distribuição**. A fase de distribuição inicial garante que as condições de injeção/distribuição são iguais para cada poço.



PRECAUÇÃO

FECHE TOTALMENTE A TAMPA DO MÓDULO DA BOMBA (CAIXA DE INJETOR) ANTES DE INICIAR UMA MEDIÇÃO.

Refluxo de reagente

O volume morto do sistema de injeção (agulhas de injetor, seringas, válvulas e tubagem) é de aproximadamente 100 μ l para cada seringa depois de realizado o processo de refluxo. A função do refluxo é devolver o reagente não utilizado para os frascos de armazenamento.

A velocidade de injeção pode ser ajustada através do software para permitir uma boa mistura dos reagentes. A velocidade de injeção ideal depende dos parâmetros do ensaio, nomeadamente da viscosidade dos fluidos, do formato da placa e do comportamento de medição dos líquidos.

O refluxo de reagente permite bombear os reagentes no sistema de tubagem de volta para os frascos de armazenamento. Esta ação pode ser realizada opcionalmente antes da lavagem do sistema de injetor para minimizar o volume morto.

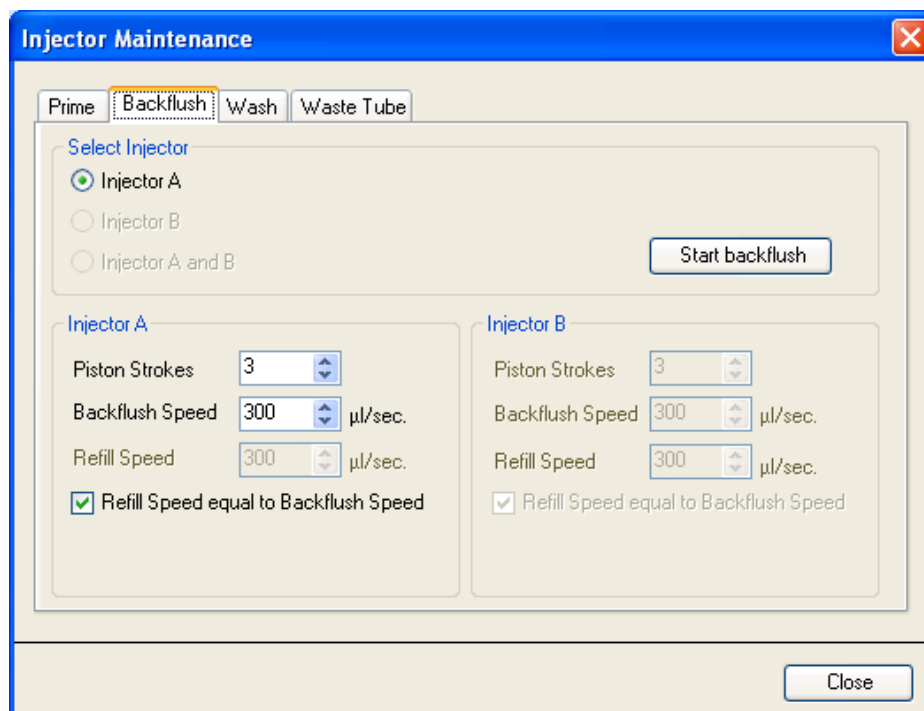
Antes de realizar o processo de **refluxo**:

Retire o transportador de injetor do instrumento e insira-o na posição de serviço da caixa de injetor.

Insira a tubagem de alimentação no frasco de armazenamento apropriado.

Processo de refluxo (i-control):

Ajuste os parâmetros no separador **Backflush** (Refluxo) da caixa de diálogo **Injector Maintenance** (Manutenção do injetor) no menu **Settings** (Definições). Inicie o processo de refluxo de reagente, clicando em **Start backflush** (Iniciar refluxo).



1. Selecione um dos injetores **Injector A** (Injetor A) ou **Injector B** (Injetor B) ou **Injector A and B** (Injetor A e B) (apenas estão disponíveis injetores **expurgados** para o **refluxo**).
2. Selecione os **Piston Strokes** (Cursos de pistão) (1 – 60; 1 curso é igual a 1 ml)
3. Selecione a **Backflush Speed** (velocidade de refluxo) (100 - 300 µl/s).
5. Selecione a **Refill Speed** (Velocidade de reabastecimento) (100 – 300 µl/s) ou selecione **Refill Speed equal to Backflush Speed** (Velocidade de reabastecimento igual a velocidade de refluxo).
5. Clique em **Start backflush** (Iniciar refluxo) para iniciar o processo de refluxo de reagente.
6. Clique em **Close** (Fechar) para sair da caixa de diálogo.



PRECAUÇÃO

O TRANSPORTADOR DE INJETOR TEM DE ESTAR NA POSIÇÃO DE SERVIÇO PARA A AÇÃO DE REFLUXO. NÃO REALIZE O REFLUXO QUANDO O INJETOR ESTIVER DENTRO DO INSTRUMENTO!

4.10.2 Lavagem

Antes de o instrumento ser desligado, é aconselhável realizar um processo de lavagem para limpar o sistema de injetor.

A lavagem pode ser realizada utilizando o software i-control ou através dos botões de hardware na caixa de injetor.

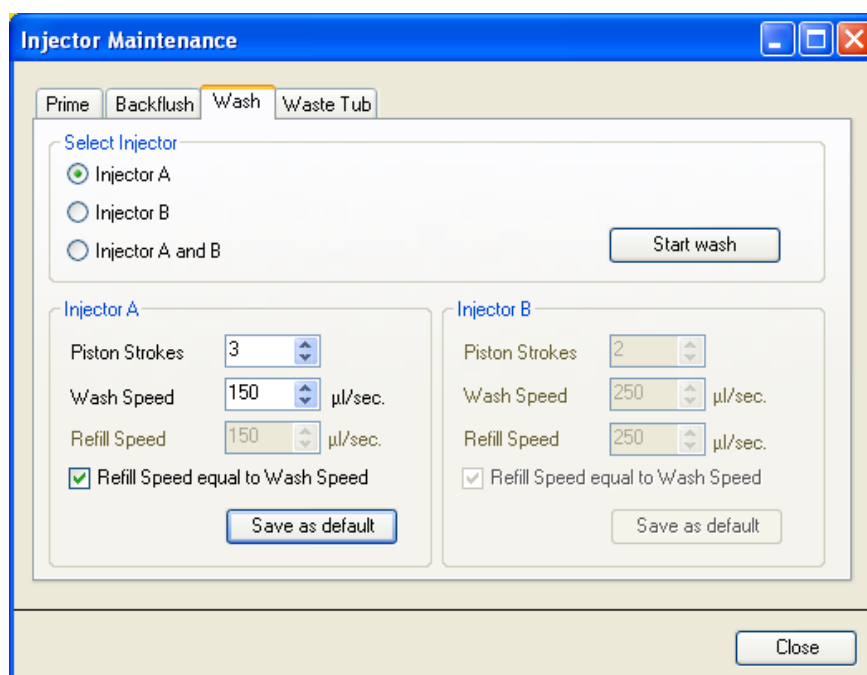
Antes de realizar o processo de lavagem:

1. Encha os frascos de armazenamento com os reagentes de lavagem apropriados (água destilada, 70% de etanol, etc.) e insira os tubos de alimentação. Certifique-se de que os tubos chegam ao fundo do frasco.
2. Retire o injetor da ranhura do transportador e insira-o na posição de serviço da caixa de injetor.
3. Coloque um contentor vazio por baixo do injetor.

Processo de lavagem (i-control):

Ajuste os parâmetros no separador **Wash** (Lavagem) da caixa de diálogo **Injector Maintenance** (Manutenção do injetor) no menu **Settings** (Definições).

1. Inicie o processo de lavagem clicando no botão **Start wash** (Iniciar lavagem).



2. Selecione um dos injetores **Injetor A** (Injetor A) ou **Injetor B** (Injetor B) ou **Injetor A and B** (Injetor A e B).
3. Selecione os **Piston Strokes** (Cursos de pistão) (1 – 60; 1 curso é igual a 1 ml)
4. Selecione a **Wash Speed** (Velocidade de lavagem) (100 - 300 µl/s).
5. Selecione a **Refill Speed** (Velocidade de reabastecimento) (100 – 300 µl/s) ou selecione **Refill Speed equal to Wash Speed** (Velocidade de reabastecimento igual a velocidade de lavagem).
6. Clique em **Start wash** (Iniciar lavagem) para iniciar o processo de lavagem.
7. Clique em **Close** (Fechar) para sair da caixa de diálogo.

Processo de lavagem (botões de hardware):

A lavagem também pode ser realizada sem utilizar o software. Os parâmetros de lavagem podem ser guardados no injetor, clicando **Save as Default** (Guardar como predefinição) no separador **Wash** (Lavagem) da caixa de diálogo **Injector Maintenance** (Manutenção do injetor) (no menu **Settings** (Definições), clique em **Injectors...** (Injetores...)) e aparece a caixa de diálogo **Injector Maintenance** (Manutenção do injetor) do software i-control). Prima o botão **Prime/Wash** (Expurgar/Lavar) na caixa de injetor para iniciar a sequência de lavagem utilizando os parâmetros predefinidos. (Consulte Figura 29: Caixa de injetor com injetor na **posição de serviço**, página 79). O injetor tem de estar conectado ao instrumento e o instrumento tem de estar ligado. Inicie o processo de lavagem premindo o botão Prime/Wash (Expurgar/Lavar) durante mais de 3 segundos.



PRECAUÇÃO

O TRANSPORTADOR DE INJETOR TEM DE ESTAR NA POSIÇÃO DE SERVIÇO PARA A AÇÃO DE LAVAGEM.
NÃO REALIZE A LAVAGEM QUANDO O INJETOR ESTIVER DENTRO DO INSTRUMENTO!



PRECAUÇÃO

CERTIFIQUE-SE DE QUE EXECUTA UM PROCESSO DE LAVAGEM FINAL COM ÁGUA DESTILADA E ESVAZIA O SISTEMA DE INJETOR. PARA UM BOM MANUSEAMENTO E PROLONGAR A SUA VIDA ÚTIL, ENCHA O SISTEMA DE INJETOR COM LÍQUIDO (ÁGUA) ANTES DE DESLIGAR O INSTRUMENTO.



PRECAUÇÃO

CONSULTE O KIT DE REAGENTE CORRESPONDENTE PARA OBTER CONSELHOS SOBRE COMO REMOVER TOTALMENTE O SUBSTRATO DO SISTEMA DE TUBAGEM.



PRECAUÇÃO

CUIDE BEM DOS INJETORES, UMA VEZ QUE SE FOREM DANIFICADOS, A EXATIDÃO DA DISTRIBUIÇÃO PODERÁ FICAR AFETADA. ISSO PODE CAUSAR DANOS NO INSTRUMENTO.



Nota

As agulhas de injetor podem ser substituídas substituindo o transportador de injetor com a tubagem correspondente.



PRECAUÇÃO

O(S) BOTÃO/BOTÕES NA CAIXA DE INJETOR INCLUI/INCLUEM DUAS FUNÇÕES:

- PRIMA O BOTÃO DURANTE MENOS DE 3 SEGUNDOS PARA INICIAR A EXPURGAÇÃO.
- PRIMA O BOTÃO DURANTE MENOS DE 3 SEGUNDOS PARA INICIAR A LAVAGEM.
- OS PARÂMETROS TÊM DE SER DEFINIDOS NO SOFTWARE I-CONTROL.

Recipiente de resíduos

Ao iniciar uma medição com as ações de **injeção** ou **distribuição**, são distribuídos 5 µl de líquido para um contentor descartável no transportador de placas antes do início da **injeção** ou **distribuição**.

A fase de distribuição inicial garante que as condições de injeção/distribuição são iguais para cada poço. Esta fase de distribuição especial depende do modo de reabastecimento selecionado no injetor ou na tira de distribuição (consulte o capítulo 4.10.4 Modos com injetor para detalhes).

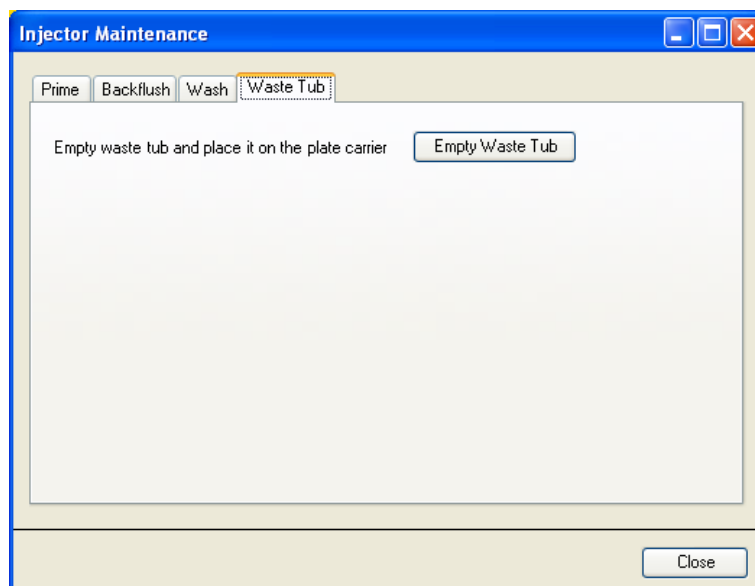
Se for utilizado o modo de reabastecimento **padrão**, a fase de distribuição será realizada após cada reabastecimento. Se for utilizada a função **Refill for every injection** (Reabastecimento para cada injeção), a fase de distribuição só será realizada uma vez ao iniciar a medição.

Por conseguinte, o contentor de resíduos descartável (recipiente de resíduos) tem de ser esvaziado de vez em quando. O volume de enchimento máximo é de 1,5 ml. Um contador interno verifica os volumes de líquido distribuídos; o software avisa o utilizador quando estiver na altura de esvaziar o recipiente de resíduos.



Figura 30: Recipiente de resíduos no transportador de placas

Processo de esvaziamento do recipiente de resíduos (i-control):



Clique no botão **Empty Waste tub** (Esvaziar o recipiente de resíduos) e o transportador de placas sai automaticamente. Remova o recipiente de resíduos e

esvazie o conteúdo. Depois de esvaziado, volte a colocar o recipiente de resíduos no transportador de placas. O software i-control avisá-lo-á quando o recipiente de resíduos tiver de ser novamente esvaziado.

**PRECAUÇÃO**

COLOQUE O RECIPIENTE DE RESÍDUOS NO TRANSPORTE DE PLACAS ANTES DE INICIAR UMA MEDIÇÃO COM AS AÇÕES DE INJEÇÃO E/OU DISTRIBUIÇÃO.

**PRECAUÇÃO**

É ACONSELHÁVEL ESVAZIAR O RECIPIENTE DE RESÍDUOS ANTES DE INICIAR UMA MEDIÇÃO E ESVAZIÁ-LO PELO MENOS UMA VEZ POR DIA.

**AVISO**

PODEM SER ASSOCIADOS RISCOS BIOLÓGICOS AOS RESÍDUOS (MICROPLACA) DE PROCESSOS EXECUTADOS NO LEITOR INFINITE. TRATE A MICROPLACA USADA, OUTROS DESCARTÁVEIS E TODAS AS SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS DE ACORDO COM OS PRINCÍPIOS DE BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO.

INFORME-SE SOBRE OS PONTOS DE RECOLHA APROPRIADOS E OS MÉTODOS DE ELIMINAÇÃO APROVADOS NO SEU PAÍS, ESTADO OU REGIÃO.

4.10.3 *Antes de iniciar uma medição com injetores*

Antes de iniciar uma medição, certifique-se de que:

- Os tubos estão limpos. Caso contrário, consulte o capítulo 4.10.1 Expurgação e lavagem do leitor Infinite para obter detalhes sobre a limpeza do sistema de injetor.
- Os tubos de injetor estão inseridos corretamente nos frascos de armazenamento e estão fixados.
- O sistema de injetor está expurgado. Não é possível iniciar uma medição sem expurgar o sistema.

Durante a expurgação do sistema:

- Verifique os tubos quanto a fugas, visualmente ou utilizando um fluido não perigoso, antes da expurgação com reagentes dispendiosos.
- Verifique se os tubos estão torcidos, visualmente ou utilizando um fluido não perigoso, antes da expurgação com reagentes dispendiosos.
- Certifique-se de que as agulhas de injetor não estão torcidas.
- Se, por qualquer razão, os tubos necessitarem de ser substituídos, depois da substituição, não se esqueça de realizar a lavagem e a expurgação antes de iniciar uma medição.

4.10.4 *Modos com injetor (i-control)*

Durante a utilização do injetor, estão disponíveis dois modos:

Dispense (Distribuição): O modo de distribuição permite distribuir um líquido por placa para os poços selecionados

Injection (Injeção): Este modo tem de ser utilizado em combinação com uma tira de medição. A injeção é realizada num modo por poço.

Modo de distribuição

As definições de distribuição podem ser ajustadas através do software:

The screenshot shows the 'Dispense' configuration window. It has a title bar with a 'Dispense' label and a page number '3'. The main area is divided into two sections: 'Select Injector' and 'Refill mode'.
Under 'Select Injector', there are two rows for 'Injector A' and 'Injector B'. Each row has a checked checkbox, a 'Volume' field set to '100 µl', a 'Speed' field set to '200 µl/sec.', and an unchecked checkbox for 'Refill Speed equal to Dispense Speed'. Below each 'Refill Speed equal to Dispense Speed' checkbox is a 'Refill Speed' field set to '100 µl/sec.'.
Under 'Refill mode', there is a radio button selected for 'Standard'. Below it are two 'Refill Volume' fields, both set to '500 µl'. At the bottom, there is an unchecked radio button for 'Refill for every dispense'.

Dispense (Distribuição)

Select Injector (Selecionar injetor): Pode seleccionar-se Injector A (Injetor A) e/ou Injector B (Injetor B).

Speed (Velocidade): A velocidade de injeção pode ser seleccionada de 100 a 300 µl/s para cada injetor.

Selecione a **Refill Speed** (Velocidade de reabastecimento) de 100 a 300 µl/s para cada injetor ou selecione **Refill Speed equal to Dispense Speed** (Velocidade de reabastecimento igual a velocidade de lavagem).

Selecione o modo de reabastecimento **Standard (Padrão)** se o reabastecimento deve ser realizado com a seringa vazia (são realizadas várias fases de distribuição antes do reabastecimento, o reabastecimento ocorre após a distribuição de aprox. 800 µl).

Selecione **Refill for every dispense** (Reabastecimento para cada distribuição) se o reabastecimento deve ser realizado para cada fase de distribuição.

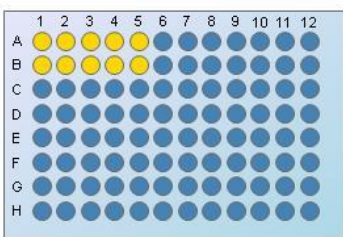
Utilização da tira de distribuição

▼ Plate
1

Plate definition: [GRE96fb_chimney] - Greiner 96 Flat Black ▼ Details...

Plate with cover [Use a part of the plate](#)

▼ Part of Plate
2



▼ Details...

▼ Dispense
3

Select Injector:

Injector A: Volume: 100 µl Speed: 200 µl/sec.
 Refill Speed equal to Dispense Speed Refill Speed: 100 µl/sec.

Injector B: Volume: 100 µl Speed: 200 µl/sec.
 Refill Speed equal to Dispense Speed Refill Speed: 100 µl/sec.

Refill mode:

Standard

Injector A Refill Volume: 500 µl
Injector B Refill Volume: 500 µl

Refill for every dispense

Plate (Placa)	Selecione um tipo de placa apropriado
Part of the plate (Parte da placa)	Opcional; Selecione os poços a distribuir
Dispense (Distribuição)	Configure os parâmetros de distribuição. Se estiverem selecionados ambos os injetores, todos os poços são primeiro distribuídos com o injetor A e depois com o injetor B. A tira de distribuição não requer uma tira de medição adicional.
Dispense volume (Volume de distribuição)	O volume de injeção depende do tipo de microplaca. Os ficheiros de definição da placa incluem um volume de trabalho. Este volume de trabalho define o volume máximo a ser distribuído na microplaca selecionada. Por isso, certifique-se sempre de que o ficheiro definição da placa selecionado contém a definição correta para o volume de trabalho. O volume máximo de distribuição é de 800 µl/tira de distribuição. Se for necessário distribuir volumes superiores a 800 µl (p. ex., para placas de 6 poços), tem de ser utilizada mais de uma tira de distribuição.

Modo de injeção

As definições de injeção podem ser ajustadas através do software:

The screenshot shows the 'Injection' configuration window. It is divided into two main sections: 'Select Injector' and 'Refill mode'.
 In the 'Select Injector' section, there are two options: 'Injector A' and 'Injector B'. For each, there are input fields for 'Volume' (set to 100 µl) and 'Speed' (set to 200 µl/sec). There are also checkboxes for 'Refill Speed equal to Injection Speed', which are currently unchecked. The 'Refill Speed' for each injector is set to 100 µl/sec.
 In the 'Refill mode' section, there are two radio buttons: 'Standard' (selected) and 'Refill for every injection'. Under 'Standard', there are input fields for 'Injector A Refill Volume' and 'Injector B Refill Volume', both set to 500 µl.
 A link labeled 'Wait after injection' is located at the bottom right of the window.

Injection (Injeção)

Select Injector (Selecionar injetor):

Pode selecionar-se Injetor A (Injetor A) ou Injetor B (Injetor B). Não é possível selecionar ambos os injetores numa tira. Se for necessário realizar uma medição com dois injetores, são necessárias duas tiras de injetor.

Speed (Velocidade): A velocidade de injeção pode ser selecionada de 100 a 300 µl/s para cada injetor.

Selecione uma **Refill Speed** (Velocidade de reabastecimento) de 100 a 300 µl/s para cada injetor ou marque a caixa **Refill Speed equal to Injection Speed** (Velocidade de reabastecimento igual a velocidade de injeção).

Selecione o modo de reabastecimento **Standard (Padrão)** se o reabastecimento deve ser realizado com a seringa vazia (são realizadas várias fases de injeção antes do reabastecimento o reabastecimento ocorre após a distribuição de aprox. 800 µl). Selecione **Refill for every injection** (Reabastecimento para cada injeção) se o reabastecimento deve ser realizado para cada fase de injeção.

Injection volume (Volume de injeção)

O volume de injeção depende do tipo de microplaca. Os ficheiros de definição da placa incluem um volume de trabalho. Este volume de trabalho define o volume máximo a injetar na microplaca selecionada. Por isso, certifique-se sempre de que o ficheiro definição da placa selecionado contém uma definição correta para o volume de trabalho. O volume máximo de injeção é de 800 µl/tira de injeção. Se for necessário injetar volumes superiores a 800 µl (p. ex., para placas de 6 poços), tem de ser utilizada mais de uma tira de injeção.

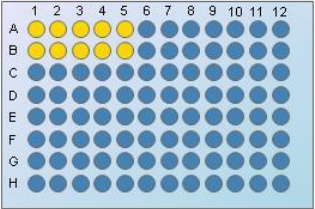
Utilização da tira de injeção

▼ Plate
1

Plate definition: [IGRE96fb_chimney] - Greiner 96 Flat Black ▼ Details...

Plate with cover [Use a part of the plate](#)

▼ Part of Plate
2


Details...

▼ Well
3

▼ Injection
4

Select Injector:

Injector A: Volume: 100 µl Speed: 200 µl/sec.
 Refill Speed equal to Injection Speed Refill Speed: 100 µl/sec.

Injector B: Volume: 100 µl Speed: 200 µl/sec.
 Refill Speed equal to Injection Speed Refill Speed: 100 µl/sec.

Refill mode

Standard
 Injector A Refill Volume: 500 µl
 Injector B Refill Volume: 500 µl

Refill for every injection [Wait after injection](#)

▼ Absorbance (Well-wise)
5

Wavelength

Measurement: 400 nm (9) Reference

Multiple Reads per Well

Multiple reads per well

Read

Number of flashes: 25
Settle time: 0 ms

Label

Name: Label1

Plate (Placa)	Selecione um tipo de placa apropriado.
Part of the plate (Parte da placa)	Opcional; Selecione os poços a distribuir
Well (Poço)	A tira de poço é obrigatória. A injeção só é possível com uma tira de poço . Esta tira garante que as tiras indentadas seguintes são executadas por poço.
Injection Injeção)	Configure os parâmetros de injeção. Só pode ser selecionado um injetor por tira. Se forem necessários ambos os injetores ou se um injetor realizar duas injeções, tem de ser inserida uma tira de injeção adicional.
Measurement strip (Tira de medição) (Exemplo: Absorvância)	É obrigatório usar pelo menos uma tira de medição em combinação com a tira de injeção. A posição da(s) tira(s) de medição (antes e/ou depois da tira de injeção) depende da aplicação e, por conseguinte, pode ser selecionada pelo utilizador.

**Nota**

Certifique-se de que o valor do volume de trabalho correspondente no seu ficheiro definição da placa é superior ao volume utilizado para a injeção.

Tira de espera

É possível inserir uma tira **Wait timer** (Aguardar (temporizador)) (atraso ou tempo de repouso) no processo.

Wait time (Tempo de espera)	Selecione um tempo em hh:mm:ss, de 00:00:01 até 23:59:59
Opções	<p>Se estiver selecionado Wait for injection (Aguardar injeção), o tempo de espera inclui o tempo de injeção.</p> <p>Se NÃO estiver selecionado Wait for injection (Aguardar injeção), o tempo de espera é adicionado ao tempo de injeção.</p>

4.11 Medições de branco

O software permite uma medição de **branco. Blanking** (Branco) no menu **Instrument** (Instrumento) só está disponível quando está aberto um script de medição com uma medição de tina. Quando está selecionado **Blanking** (Branco) no menu **Instrument** (Instrumento), uma medição de absorvância com a porta de tina é ativada de acordo com os parâmetros (comprimento de onda, número de flash, tempo de repouso) do script ativo. É solicitado ao utilizador que insira a tina de branco (p. ex., com a solução de amortecedor) e inicie a medição. Os dados de branco são então escritos na folha de cálculo do Excel. Os dados também são guardados no software e podem ser aplicados às medições de tina seguintes realizadas com os mesmos parâmetros. Os dados de branco são automaticamente subtraídos quando a caixa de verificação **Apply Blanking** (Aplicar branco) é selecionada na tira **Absorbance** (Absorvância) ou **Absorbance Scan** (Digitalização de absorvância).

Os dados de branco são guardados no software enquanto não for realizada outra medição de branco ou o software for fechado. Tenha em conta que os dados de branco guardados são substituídos sem mensagem de aviso se for iniciada outra medição de branco. Os dados de branco guardados também serão apagados sem mensagem de aviso ao fechar o software.

**PRECAUÇÃO**

OS DADOS DE BRANCO SERÃO SUBSTITUÍDOS SEM MENSAGEM DE AVISO QUANDO FOR INICIADA OUTRA MEDIÇÃO DE BRANCO. OS DADOS DE BRANCO SERÃO APAGADOS SEM MENSAGEM DE AVISO AO FECHAR O SOFTWARE I-CONTROL.

4.12 Medições de tina

4.12.1 Tira de tina

Para realizar medições de tina, é necessária uma tira de **Tina**



Figura 31: Tira de tina

Para algumas aplicações, pode ser necessário combinar uma medição de microplaca com uma medição de tina. Por isso, o software i-control permite a utilização de uma tira de tina e uma tira de placa dentro de um script de medição. A medição de tina tem de ser posicionada antes da medição de microplaca. Para realizar uma medição de microplaca exata, a porta da tina não pode estar aberta. Por conseguinte, o software não permite ao utilizador usar um tira **Move cuvette OUT** (Mover tina PARA FORA) antes da medição de microplaca (consulte também o capítulo 4.12.3).

4.12.2 Movimentos da tina

A tina pode ser movida para dentro e para fora com os botões **cuvette in** (tina para dentro) e **cuvette out** (tina para fora) ou selecionando **Cuvette in/Cuvette out** (Tina dentro/Tina fora) na caixa de diálogo **Instrument/Movements** (Instrumento/Movimentos).



Figura 32: Botão de tina para fora e para dentro

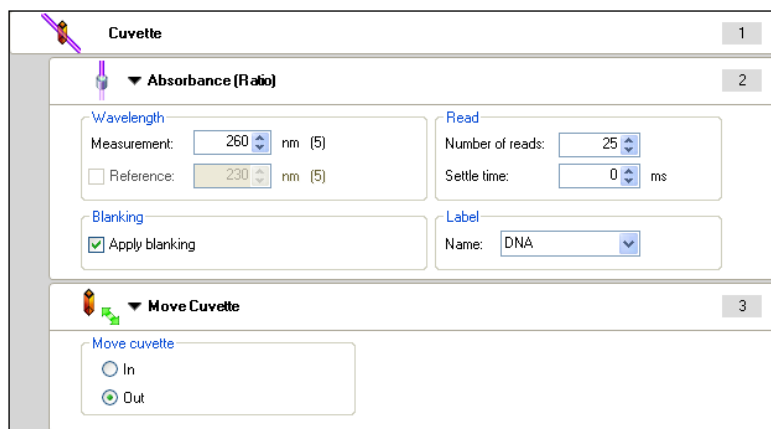
4.12.3 Exemplos de tina com i-control

Exemplo 1:

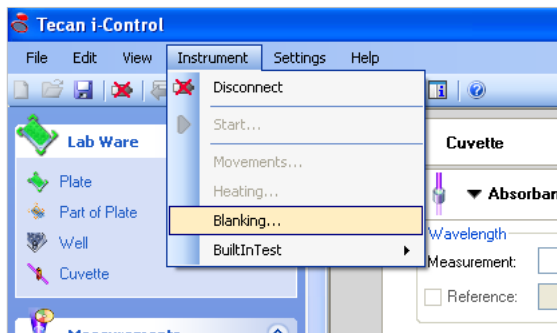
Exemplos de como utilizar a medição **Blanking** (Branco) ao medir uma amostra de ADN:

Prepare a tina com um amortecedor de amostra

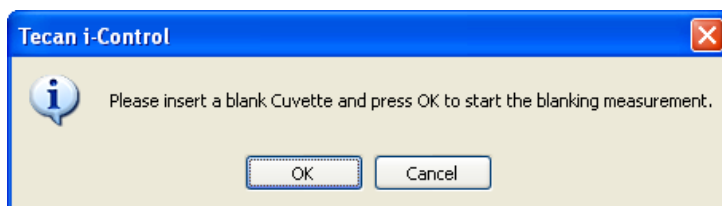
Configure a medição de ADN no software i-control:



Selecione **Blanking** (Branco) no menu **Instrument** (Instrumento):

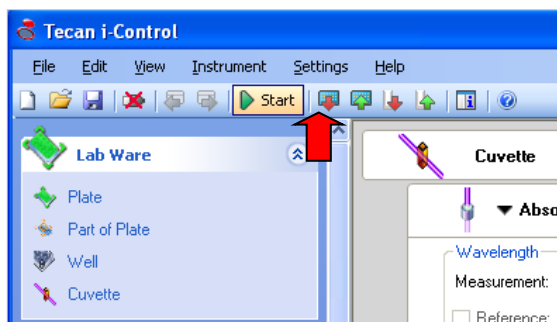


O instrumento é inicializado e o suporte de tinas sai. É solicitado ao utilizador que insira a tina de branco:



Insira a tina de branco e clique em **OK** para iniciar a medição de branco. Os dados de branco medidos são apresentados numa folha de cálculo de Excel. O suporte de tinas sai.

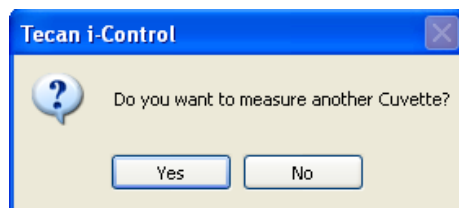
Remova a tina de branco. Prepare a tina de amostra e coloque-a no suporte de tinas. Inicie a medição, clicando em **Start** (Iniciar):



O suporte de tinas é movido para dentro e a medição é realizada. Os dados medidos (Value (Valor)), bem como os dados de branco (Blank (Branco)) e os dados diferenciados (Diff) são apresentados numa folha de cálculo de Excel: Exemplo de apresentação de dados durante a medição de duas tinas:

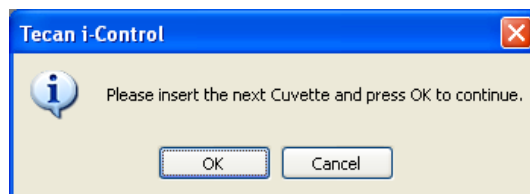
Info: Blank data from: 20.03.2006 15:34:31				
	Value	Blank	Diff	
Cuv. 1	1.032	0.054	0.978	
Cuv. 2	1.409	0.054	1.355	

Depois de terminar a medição da primeira tina (Cuv: 1), é apresentada a seguinte mensagem:



Clique em **No** (Não) para terminar a medição.

Clique em **Yes** (Sim) para continuar:



Insira a próxima tina de amostra e clique em **OK** para continuar a medição.

Exemplo 2:

Combinação de uma medição de microplaca com uma medição de tina:

Para algumas aplicações, pode ser necessário comparar dados medidos numa microplaca com os dados de uma tina. O seguinte exemplo mostra como configurar essa medição em geral:

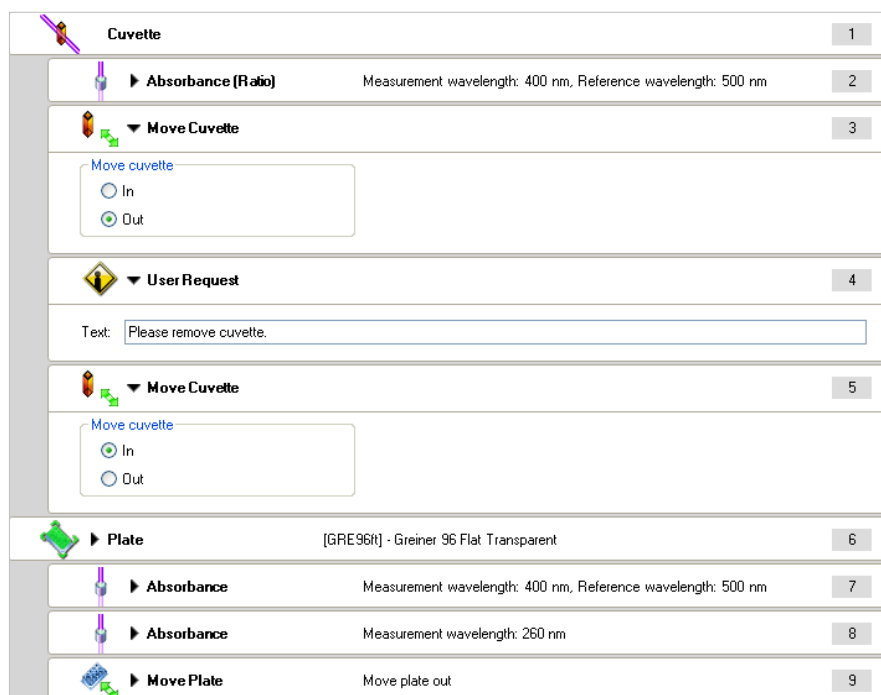
The screenshot shows three stacked configuration panels in the software interface:

- Panel 1 (Cuvette):** Titled 'Cuvette' with a cuvette icon. It contains an 'Absorbance (Ratão)' section with 'Wavelength' (Measurement: 400 nm, Reference: 500 nm), 'Read' (Number of reads: 25, Settle time: 0 ms), and 'Blanking' (Apply blanking: unchecked). The label is 'Label1'.
- Panel 2 (Plate):** Titled 'Plate' with a plate icon and '[GRE96ft] - Greiner 96 Flat Transparent'. It contains an 'Absorbance' section with 'Wavelength' (Measurement: 400 nm, Reference: 500 nm), 'Read' (Number of reads: 25, Settle time: 0 ms), and 'Multiple Reads per Well' (Multiple reads per well: unchecked). The label is 'Label8'.
- Panel 3 (Plate):** Titled 'Absorbance'. It contains 'Wavelength' (Measurement: 260 nm, Reference: 230 nm), 'Read' (Number of reads: 25, Settle time: 0 ms), and 'Multiple Reads per Well' (Multiple reads per well: checked). The label is 'Label2'.

Cuvette (Tina)	Necessária para medições de tina.
Absorbance strip (cuvette) (Tira de absorvância (tina))	São permitidas até 4 tiras de absorvância de comprimento de onda fixo. O comprimento de onda de referência apenas pode ser selecionado quando for utilizada uma tira de absorvância de comprimento de onda fixo. Apply blanking (Aplicar branco) está desativado quando está selecionado um comprimento de onda de referência. Selecione os parâmetros de medição apropriados (comprimento de onda, número de flashes e tempo de repouso)
Plate (Placa)	Necessária para medições de placa. Selecione um tipo de placa apropriado para a medição.
Part of Plate (Parte da placa) (não ilustrado)	Opcional. Utilize a tira part of plate (Parte da placa) se pretender medir apenas uma parte da placa.
Absorbance strip (microplata) (Tira de absorvância (microplaca))	São permitidas até 10 tiras de absorvância de comprimento de onda fixo. O comprimento de onda de referência apenas é permitido na primeira tira de absorvância. O comprimento de onda de referência está desativado nas tiras de absorvância de 2 a 10. Selecione os parâmetros de medição apropriados (comprimento de onda, número de flashes e tempo de repouso) para a sua aplicação.

Exemplo 3:

Utilização da tira **Move Cuvette OUT** (Mover tina PARA FORA) durante a medição de uma combinação de microplaca com tina:



Cuvette (Tina)	Necessária para a medição de tina
Absorbance strip (cuvette) (Tira de absorvância (tina))	São permitidas até 4 tiras de absorvância de comprimento de onda fixo. O comprimento de onda de referência apenas pode ser selecionado quando for utilizada uma tira de absorvância de comprimento de onda fixo. Apply blanking (Aplicar branco) está desativado quando está selecionado um comprimento de onda de referência. Selecione os parâmetros de medição apropriados (comprimento de onda, número de flashes e tempo de repouso)
Move Cuvette (Out) (Mover tina (para fora))	O suporte de tinas é movido para fora .
User Request (Pedido do utilizador)	O pedido do utilizador interrompe a medição e, desse modo, permite a remoção da tina da respetiva porta. Quando o pedido for confirmado, a medição continua.
Move Cuvette (In) (Mover tina (para dentro))	A porta de tina é movida para dentro.
Plate (Placa)	Necessária para medições de placa. Selecione um tipo de placa apropriado para a medição.
Part of Plate (Parte da placa) (não ilustrado)	Opcional. Utilize a tira part of plate (Parte da placa) se for medida apenas uma parte da placa.

<p>Absorbance strip (microplate) (Tira de absorvância (microplaca))</p>	<p>São permitidas até 10 tiras de absorvância de comprimento de onda fixo. O comprimento de onda de referência apenas é permitido na primeira tira de absorvância. O comprimento de onda de referência está desativado nas tiras de absorvância de 2 a 10.</p> <p>Selecione os parâmetros de medição apropriados (comprimento de onda, número de flashes e tempo de repouso) para a sua aplicação.</p>
<p>Move Plate (Mover placa)</p>	<p>Opcional. Para retirar automaticamente a microplaca do instrumento depois de terminada a medição, selecione Move plate OUT (Mover placa PARA FORA).</p>

4.13 Exemplos i-control

Exemplo 1: Ensaio Dual-Luciferase® (Promega Corp.)

Para os detalhes do ensaio, visite 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)	Selecione um tipo de placa apropriado. Para medições de luminescência, são recomendadas microplacas brancas. Para este exemplo, foi selecionada uma placa branca de 96 poços.
Part of the plate (Parte da placa)	(Não ilustrado); pode ser opcionalmente selecionado se se pretender processar apenas uma parte da placa.
Well (Poço)	Obrigatório para medições com injeção
Injection (Injeção) (1)	O injetor A injeta 100 µl a uma velocidade de 200 µl/s, modo de reabastecimento: standard (padrão)
Wait (Timer) (Aguardar (temporizador))	Tempo de espera de 2 s
Luminescence (Luminescência) (1)	Medição de luminescência com tempo de integração de 10 s, nenhuma atenuação
Injection (Injeção) (2)	O injetor B injeta 100 µl a uma velocidade de 200 µl/s, modo de reabastecimento standard (padrão)
Wait (Timer) (Aguardar (temporizador))	Tempo de espera de 2 s
Luminescence (Luminescência) (2)	Medição de luminescência com tempo de integração de 10 s, nenhuma atenuação
Move Plate (Mover placa)	A placa é movida para fora depois de terminar todos os poços



PRECAUÇÃO

LIGUE O INSTRUMENTO PELO MENOS 15 MINUTOS ANTES DE INICIAR UMA MEDIÇÃO DE LUMINESCÊNCIA. ALGUNS COMPONENTES TÊM DE AQUECER PARA GARANTIR CONDIÇÕES ESTÁVEIS PARA A MEDIÇÃO.

Exemplo 2: Kit de deteção da bioluminescência do sistema de ensaio ATP Enliten® para ATP (Promega Corp.)

Para os detalhes do ensaio, visite www.promega.com.







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

Plate (Placa)	Selecione um tipo de placa apropriado. Para medições de luminescência, são recomendadas microplacas brancas. Para este exemplo, foi selecionada uma placa branca de 96 poços.
Part of the plate (Parte da placa)	(Não ilustrado); pode ser opcionalmente selecionado se se pretender processar apenas uma parte da placa
Well (Poço)	Obrigatório para medições com injeção
Injection (Injeção)	O injetor A injeta 100 µl a uma velocidade de 100 µl/s, modo de reabastecimento: standard (padrão)
Wait (Timer) (Aguardar (temporizador))	Tempo de espera de 2 s
Luminescence (Luminescência)	Medição de luminescência com tempo de integração de 10 s, nenhuma atenuação
Move Plate (Mover placa)	A placa é movida para fora depois de terminar todos os poços.



PRECAUÇÃO

LIGUE O INSTRUMENTO PELO MENOS 15 MINUTOS ANTES DE INICIAR UMA MEDIÇÃO DE LUMINESCÊNCIA. ALGUNS COMPONENTES TÊM DE AQUECER PARA GARANTIR CONDIÇÕES ESTÁVEIS PARA A MEDIÇÃO.

Exemplo 3: Medição de sondas sensíveis 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)	Selecione um tipo de placa apropriado. Para medições de fluorescência, são recomendadas microplacas pretas. Para este exemplo, foi selecionada uma placa preta de 96 poços.
Part of the plate (Parte da placa)	(Não ilustrado), pode ser opcionalmente selecionado se se pretender processar apenas uma parte da placa
Well (Poço)	Obrigatório para medições com injeção
Kinetic Cycle (Ciclo cinético)	Selecione o número de ciclos necessários
Kinetic condition (Condição cinética)	Esta tira permite realizar uma vez ações durante uma execução cinética num determinado ciclo. A tira de injeção prevista abaixo só é processada uma vez no ciclo selecionado.
Injection (Injeção)	O injetor A injeta 20 µl a uma velocidade de 200 µl/s, modo de reabastecimento: não selecionável, a injeção é realizada no ciclo 5 (definido pela tira de condição cinética)
Fluorescence Intensity (Intensidade de fluorescência) (1)	Selecione os parâmetros apropriados para a primeira marca: Comprimento de onda de excitação: 380 nm, comprimento de onda de emissão: 510 nm; número de flashes: 25; tempo de integração: 40; ganho: manual
Fluorescence intensity (Intensidade de fluorescência) (2)	Selecione os parâmetros apropriados para a segunda marca: Comprimento de onda de excitação: 340 nm, comprimento de onda de emissão: 510 nm; número de flashes: 25; tempo de integração: 40; ganho: manual
Move Plate (Mover placa)	A placa é movida para fora depois de terminar todos os poços

Exemplo 4: Medição de sondas sensíveis 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 (Red) Excitation wavelength: 340 nm, Emission wavelength: 410 nm	6
 ▶ Fluorescence Intensity (Blue) Excitation wavelength: 340 nm, Emission wavelength: 480 nm	7
 ▶ Move Plate Move plate out	8

Plate (Placa)	Selecione um tipo de placa apropriado. Para medições de fluorescência, são recomendadas microplacas pretas. Para este exemplo, foi selecionada uma placa preta de 96 poços.
Part of the plate (Parte da placa)	(Não ilustrado); pode ser opcionalmente selecionado se se pretender processar apenas uma parte da placa
Well (Poço)	Obrigatório para medições com injeção
Kinetic Cycle (Ciclo cinético)	Selecione o número de ciclos necessários
Kinetic condition (Condição cinética)	Esta tira permite realizar uma vez ações durante uma execução cinética num determinado ciclo. A tira de injeção prevista abaixo só é processada uma vez no ciclo selecionado.
Injection (Injeção)	O injetor A injeta 20 µl a uma velocidade de 200 µl/s, modo de reabastecimento: não selecionável, a injeção é realizada no ciclo 5 (definido pela tira de condição cinética)
Fluorescence Intensity (Intensidade de fluorescência) (1)	Selecione os parâmetros apropriados para a primeira marca: Comprimento de onda de excitação: 340 nm, comprimento de onda de emissão: 410 nm; número de flashes: 25; tempo de integração: 40; ganho: manual
Fluorescence intensity (Intensidade de fluorescência) (2)	Selecione os parâmetros apropriados para a segunda marca: Comprimento de onda de excitação: 340 nm, comprimento de onda de emissão: 480 nm; número de flashes: 25; tempo de integração: 40; ganho: manual
Move Plate (Mover placa)	A placa é movida para fora depois de terminar todos os poços.

4.14 Terminar uma sessão de medição

4.14.1 Desconexão do instrumento

Após a desconexão, a comunicação entre o instrumento e o computador é cortada.



Nota

Remova a microplaca e/ou a tina antes de desconectar o instrumento do computador.

4.14.2 Paragem do instrumento

Após a paragem do instrumento, a sua atividade é interrompida imediatamente. Normalmente, o instrumento deve ser desconectado antes da paragem. No caso raro de um erro de hardware inesperado, a paragem imediata do instrumento reduzirá o risco de possíveis danos.

5. Funções do instrumento

5.1 Introdução



Nota

Todas as especificações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

Estão disponíveis os seguintes tipos de medição com o leitor Infinite completamente equipado:

Tipo de medição	Descrição
Intensidade de fluorescência do topo/fundo	Ver 5.3 Intensidade de fluorescência e fluorescência resolvida no tempo (TRF)
Fluorescência resolvida no tempo	Ver 5.3 Intensidade de fluorescência e fluorescência resolvida no tempo (TRF)
Polarização de fluorescência	Ver 5.4 Polarização de fluorescência (FP) - apenas Infinite F Plex
Absorvância	Ver 5.5 Absorvância
Luminescência do tipo Glow	Ver 5.6 Luminescência do tipo Glow
Luminescência bicolor	Ver 5.8 Luminescência bicolor (p. ex., BRET)
Luminescência do tipo Flash	Ver 5.7 Luminescência do tipo Flash

Todas as microplacas padrão de 6 a 384 poços em conformidade com as seguintes normas podem ser medidas com qualquer um dos tipos de medição supra indicados:

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

O instrumento é capaz de realizar medições cinéticas.

A leitura pode estar restrita a uma parte da microplaca.

5.2 Especificações do instrumento

A tabela em baixo apresenta as especificações técnicas do instrumento:

Parâmetros	Características
Geral	
Medição	Controlada pelo software
Interface	USB
Manuseamento do filtro:	
Configurações F do Infinite	Troca de filtro externo
Configurações M do Infinite	Seleção de comprimento de onda com monocromador – não são necessários filtros
Microplacas a medir	Placas de 6 a 384 poços (Formatos de normas SBS)
Definição da placa	Através de software de digitalização
Controlo de temperatura	A partir de 5 °C acima da temperatura ambiente até 42 °C
Agitação da placa	Agitação linear e orbital, amplitude selecionável de 1 a 6 mm em frações de 0,5 mm
Fonte de luz	Lâmpada de flash xénon de alta energia, vida útil: 10 ⁸ flashes
Ótica	Lentes de sílica fundida
Detetores:	
Fluorescência	PMT espectralmente melhorado: PMT sensível ao vermelho
Luminescência	Tubo fotomultiplicador de contagem pouco escuro eletrónica de contagem de fóton
Absorvância	Fotodíodo de silicone
Fonte de alimentação	Sistema de deteção automática: 100 – 120 V/220 – 240 V, 50-60 Hz
Consumo de potência	150 VA

Parâmetros	Características	
Físicos		
Dimensões exteriores:		
Instrumento básico	Largura:	425 mm 16,73 polegadas
	Altura:	253 mm 9,96 polegadas
	Profundidade:	457 mm 17,99 polegadas
Módulo da bomba	Largura:	250 mm 9,84 polegadas
	Altura:	155 mm 6,10 polegadas
	Profundidade:	156 mm 6,14 polegadas
Peso:		
Configurações F do Infinite	14,0 kg	
Configurações M do Infinite	15,8 kg	
Módulo da bomba	3,4 kg	
Ambientais		
Temperatura ambiente:		
Funcionamento	+ 15 °C a + 30 °C	(+ 59 °F a + 86 °F)
Fora de funcionamento	- 20 °C a 60 °C	(- 4 °F a + 140 °F)
Humidade relativa:		
Funcionamento	< 80% sem condensação	
Categoria de sobretensão	II	
Utilização	Instrumento de laboratório de uso geral	
Nível de ruído	< 60 dBA	
Grau de poluição	2	
Método de eliminação	Resíduos eletrónicos (resíduos infecciosos)	

5.3 Intensidade de fluorescência e fluorescência resolvida no tempo (TRF)

Parâmetros	Características
Gama de comprimento de onda - configurações M do Infinite:	Excitação: 230 - 850 nm Emissão: 280 - 850 nm
	selecionável em frações de 1 nm
Gama de comprimento de onda - configurações F do Infinite:	Excitação e emissão: 230 - 850 nm
Filtro padrão:	Não aplicável – os instrumentos são equipados com filtros definidos pelo utilizador

Definição do ganho	Valores	Gama de medição
Manual	1 - 255	0 - 60,000 RFU
Ótimo	automático	0 - 60,000 RFU
Calculado a partir do poço	automático	0 - 60,000 RFU

Parâmetros TRF	Características
Tempo de integração	10 - 2000 μ s
Atraso	0 - 2000 μ s

5.3.1 Definição do limite de deteção

O limite de deteção é a concentração de fluoróforo na qual o sinal deduzido do fundo é igual a 3 vezes o desvio padrão do ruído de fundo.

Ao selecionar 1 flash por poço, o transportador de placas não para na posição de medição. A utilização de mais flashes por poço pode melhorar o limite de deteção, mas o tempo de medição total pode ser mais longo.

5.3.2 Fluoresceína (intensidade de fluorescência) Topo

Tipo de placa (número de poços)	96
Volume de distribuição [μ l]	200
Flashes (leituras) por poço	25
Limite de deteção de fluoresceína [pM]	< 20 pM
Uniformidade com 25 nM de fluoresceína	< 3% CV
Reprodutibilidade com 25 nM de fluoresceína	< 2%

5.3.3 Fluoresceína (intensidade de fluorescência) Fundo

Tipo de placa (número de poços)	96
Volume de distribuição [μl]	200
Flashes (leituras) por poço	25
Limite de detecção de fluoresceína [pM]	100 pM
Uniformidade com 25 nM de fluoresceína	< 3% CV
Reprodutibilidade com 25 nM de fluoresceína	< 2%

5.3.4 Európio (fluorescência resolvida no tempo)

Tipo de placa (número de poços)	96
Volume de distribuição [μl]	200
Flashes (leituras) por poço	25
Limite de detecção de európio (configurações F do Infinite)	< 150 fM
Limite de detecção de európio (configurações M do Infinite)	< 5 pM (valor típico)

5.4 Polarização de fluorescência (FP) - apenas Infinite F Plex



Nota

A opção Polarização de fluorescência apenas está disponível para o Infinite F Plex. Este módulo não pode ser instalado noutras configurações do Infinite.

Parâmetros	Características
Gama de comprimento de onda	Excitação: 300 – 850 nm
	Emissão: 330 – 850 nm
Filtro padrão	Configuração do tabuleiro do filtro predefinido: Exc 485 (20) nm Posição do tabuleiro do filtro Exc: Exc1: 485 (20) - paralela Exc2: 485 (20) - perpendicular Em 535 (25) nm Posição do tabuleiro do filtro Em: Em1: 535 (25) - paralela Em2: 535 (25) - paralela

Definição do ganho	Valores	Gama de medição
Manual	1 - 255	0 - 60,000 RFU
Ótimo	automático	0 - 60,000 RFU
Calculado a partir do poço	automático	0 - 60,000 RFU

Parâmetros FP	Características
Tempo de integração	20 - 2000 μ s
Atraso	0 - 2000 μ s
Precisão FP (apenas configurações F do Infinite)	< 5 mP com 1 nM de fluoresceína

5.5 Absorvância

Parâmetros	Tipo de instrumento	Características
Gama de comprimento de onda	Configurações F do Infinite	230 – 1000 nm
	Configurações M do Infinite	230 – 1000 nm Nenhum filtro necessário, possibilidade de seleção em frações de 1 nm
Gama de medição	Ambos	0 – 4 OD

As seguintes especificações são válidas para a gama de comprimento de onda de 300 a 700 nm para configurações do Infinite.

Tipo de placa (número de poços)	96
Exatidão 0 – 2 OD	$< \pm (1\% + 10 \text{ mOD})$
Exatidão 2 – 3 OD	$< \pm 2,5\%$
Planidade de base	$\pm 10 \text{ mOD (1 sigma)}$
Configurações M do Infinite	
Exatidão do comprimento de onda	$\leq \pm 1.5 \text{ nm } \lambda > 315 \text{ nm};$ $\leq \pm 0.8 \text{ nm } \lambda \leq 315 \text{ nm}$
Configurações F do Infinite	
Exatidão do comprimento de onda	Em função dos filtros utilizados

As especificações são válidas para medições realizadas com 25 flashes (leituras) por poço.

5.6 Luminescência do tipo Glow



PRECAUÇÃO

LIGUE O INSTRUMENTO PELO MENOS 15 MINUTOS ANTES DE INICIAR UMA MEDIÇÃO DE LUMINESCÊNCIA. ALGUNS COMPONENTES TÊM DE AQUECER PARA GARANTIR CONDIÇÕES ESTÁVEIS PARA A MEDIÇÃO.

A detecção de luminescência usa a técnica de contagem de fótons.

Parâmetros	Características
Gama de comprimento de onda	380 – 600 nm
Gama dinâmica linear	6 ordens de grandeza
Tempo de integração/poço	100 – 20000 ms
% diafonia (placa preta)	< 0,01%
Gama de medição	> 6 ordens de grandeza 8 ordens de grandeza (gama dinâmica alargada)
Atenuação da luz	100 (filtro de atenuação OD2), 1 (sem atenuação)

5.6.1 Luminescência Glow ATP

Tipo de placa (número de poços)	96
Volume de distribuição total [μl]	200
Tempo de integração/poço [ms]	1000
Limite de detecção ATP	3 fmol/poço



PRECAUÇÃO

AS ESPECIFICAÇÕES SÓ SÃO VÁLIDAS QUANDO O INSTRUMENTO É COLOCADO NUM LOCAL COM UMA ILUMINAÇÃO < 500 LUX.

5.7 Luminescência do tipo Flash



PRECAUÇÃO

LIGUE O INSTRUMENTO PELO MENOS 15 MINUTOS ANTES DE INICIAR UMA MEDIÇÃO DE LUMINESCÊNCIA. ALGUNS COMPONENTES TÊM DE AQUECER PARA GARANTIR CONDIÇÕES ESTÁVEIS PARA A MEDIÇÃO.

A detecção de luminescência usa a técnica de contagem de fótons.

Parâmetros	Características
Gama de comprimento de onda	380 – 600 nm
Gama de medição	> 6 ordens de grandeza 8 ordens de grandeza (gama dinâmica alargada)
Tempo de integração/poço	100 – 20000 ms
% diafonia (placa preta)	< 0,01%
Atenuação da luz	100 (filtro de atenuação OD2), 1 (sem atenuação)
Limite de detecção ATP	< 80 amol/poço



PRECAUÇÃO

AS ESPECIFICAÇÕES SÓ SÃO VÁLIDAS QUANDO O INSTRUMENTO É COLOCADO NUM LOCAM COM UMA ILUMINAÇÃO < 500 LUX.

5.8 Luminescência bicolor (p. ex., BRET)



PRECAUÇÃO

LIGUE O INSTRUMENTO PELO MENOS 15 MINUTOS ANTES DE INICIAR UMA MEDIÇÃO DE LUMINESCÊNCIA. ALGUNS COMPONENTES TÊM DE AQUECER PARA GARANTIR CONDIÇÕES ESTÁVEIS PARA A MEDIÇÃO.

Parâmetros	Características
Comprimento de onda integrado	Ver 2.5.4 Sistema de absorvância (configurações F do Infinite)
Tempo de integração	100 - 20000 ms. São possíveis tempos de integração diferentes para cada comprimento de onda.
Tipo de placa	Microplacas de 96 e 384 poços
Gama dinâmica	6 décadas

5.9 Medições “na hora”

As medições **na hora** são as medições mais rápidas possíveis com o leitor Infinite. Estas medições realizam-se utilizando apenas um flash (número de flashes).

Placas de 96 poços (FI, TRF, absorvância) Tempo de medição: < 20 s

Placas de 384 poços (FI, TRF, absorvância) Tempo de medição: < 30 s

(Movimento de placa para dentro/para fora não incluído).

5.10 Funções de tina (apenas configurações M do Infinite)



Nota

A opção Cuvette (Tina) apenas está disponível para a configuração M do Infinite. Este módulo não pode ser instalado numa configuração F do Infinite.

A opção de tina permite realizar medições de absorvância no comprimento de onda fixo e modo de leitura.

Parâmetros	Características
Gama de comprimento de onda	230– 1000 nm (nenhum filtro necessário, possibilidade de seleção em frações de 1 nm)
Gama de medição	0 – 4 OD

5.10.1 Especificações da tina

As seguintes especificações são válidas para a gama de comprimento de onda de 300 a 700 nm, número de flashes 25:

Tina	Hellma 110-QS, 10 mm
Exatidão 0 – 2 OD	< ± (1% + 18 mOD)
Exatidão 2 – 3 OD	< ± 2,5%
Reprodutibilidade 0 – 2 OD	< ± (1% + 10 mOD)
Reprodutibilidade 2 – 3 OD	< ± 2,5%
Linearidade 0 – 2 OD	$R^2 > 0,998$
Planidade de base	± 10 mOD (1 sigma)



PRECAUÇÃO

A PORTA DE TINA DE UMA CONFIGURAÇÃO M DO INFINITE NÃO PODE SER USADA PARA TINAS COM UMA JANELA DE MEDIÇÃO < 2 MM (DIÂMETRO) E UMA ALTURA DO CENTRO INFERIOR A 15 MM.

5.11 Especificações do injetor

Parâmetros	Características
Exatidão	< 10% para volume de injeção de 10 µl
	< 2% para volume de injeção de 100 µl
	< 0,7% para volume de injeção de 450 µl
Precisão	< 10% para volume de injeção de 10 µl
	< 2% para volume de injeção de 100 µl
	< 0,7% para volume de injeção de 450 µl

5.11.1 Compatibilidade com reagentes do injetor

O sistema de injetor das configurações F do Infinite e das configurações M do Infinite é composto pelos seguintes materiais:

- Teflon (PTFE): tubagem, obturador da válvula, vedante
- Kelf: corpo da válvula
- SC05: agulhas de injetor

Consulte a seguinte lista para a compatibilidade dos reagentes. A classificação **A** indica uma boa compatibilidade com o sistema de injetor. Os químicos de classe **D** não podem ser utilizados com os injetores Infinite. Podem causar danos graves no sistema de injetor.

Químicos de classe A	Químicos de classe D
Ácido acético < 60%	Butilamina
Acetonitrila	Tetracloro de carbono (seco)
Clorofórmio	Éter dietílico
Dimetilformamida	Etanolamina
Etanol	Etilenodiamina
Hexano	Furfural
Metanol (álcool metílico)	Ácido fluorídrico
Ácido sulfúrico, diluído (concentração ≤ 1 N)	Monoetanolamina
Tetraidrofurano	Hidróxido de potássio (potassa cáustica)
Água, deionizada	Hipoclorito de potássio
Água, destilada	Hidróxido de sódio
Água, doce	Hipoclorito de sódio
	Ácido sulfúrico concentrado



PRECAUÇÃO

AS INFORMAÇÕES DESTA TABELA FORAM FORNECIDAS À TECAN AUSTRIA POR OUTRAS FONTES FIDEDIGNAS E NÃO DEVEM SERVIR UNICAMENTE DE GUIA PARA A SELEÇÃO DO EQUIPAMENTO A FIM DE GARANTIR UMA COMPATIBILIDADE QUÍMICA APROPRIADA. ANTES DA INSTALAÇÃO DEFINITIVA, TESTE O EQUIPAMENTO COM OS QUÍMICOS E SOB AS CONDIÇÕES ESPECÍFICAS DA SUA APLICAÇÃO.



AVISO

AS VARIAÇÕES DE COMPORTAMENTO DOS QUÍMICOS DURANTE O MANUSEAMENTO DEVIDO A FATORES COMO A TEMPERATURA, A PRESSÃO E A CONCENTRAÇÃO PODEM CAUSAR FALHAS DO EQUIPAMENTO, MESMO QUE ESTE TENHA PASSADO UM TESTE INICIAL. PODEM OCORRER FERIMENTOS GRAVES. UTILIZE DISPOSITIVOS DE PROTEÇÃO E/OU EQUIPAMENTO DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL ADEQUADOS DURANTE O MANUSEAMENTO DOS QUÍMICOS.

5.12 Acessórios de medição

5.12.1 Filtros recomendados (apenas configurações F do Infinite)

Dirija-se ao seu distribuidor local da Tecan para obter um kit de filtros recomendado. Os filtros concebidos para um tipo de instrumento diferente não funcionarão necessariamente bem com as configurações F do Infinite.



Nota

Se a excitação e a emissão máximas de uma espécie fluorescente estiverem próximas, não devem ser convertidas diretamente em comprimentos de onda centrais para filtros de fluorescência.

Para fornecer um fundo aceitável, por um lado, o cutoff superior para comprimentos de onda de excitação e, por outro, o cutoff inferior para comprimentos de onda de emissão devem ser geralmente separados. Este compromisso depende das propriedades de bloqueio dos filtros. Para muitas moléculas fluorescentes, o sinal pode ser melhorado pela largura de banda do filtro, afastando-se do outro comprimento de onda central.

5.12.2 Tipos recomendados de microplacas



PRECAUÇÃO

PARA EVITAR DANOS NO INSTRUMENTO E DERRAMES DA AMOSTRA, CERTIFIQUE-SE DE QUE O TIPO DE MICROPLACA QUE DEVE SER UTILIZADO PARA A MEDIÇÃO CORRESPONDE AO FICHEIRO DEFINIÇÃO DA PLACA (PDFX) SELECIONADO.

Geralmente, para uma alta sensibilidade de fluorescência, são recomendadas microplacas pretas. Para concentrações baixas de marcas TRF, as microplacas brancas parecem ser melhores. Pode verificar se as placas brancas são melhores com comprimentos de onda de excitação UV.

Não recomendamos a utilização de volumes inferiores a um terço do volume máximo. Quando utilizar volumes mais baixos, verifique a disponibilidade de um tipo de placa adequado.

Para garantir um bom desempenho da leitura de fluorescência do fundo, recomendamos a utilização de placas pretas com fundo transparente.

É possível medir todas as microplacas padrão de 6 a 384 poços (altura máxima da placa de 23 mm incluindo a tampa) em conformidade com as seguintes normas:

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

Ao instalar o software operacional (i-control ou Magellan), são instalados ficheiros de definição da placa predefinidos. Consulte a lista que se segue para os números de encomenda correspondentes das microplacas. Encomende as microplacas junto do seu fornecedor local de microplacas.

Fabricante/Nome do Pdfx	N.º de cat.		N.º de desenho
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_metade da área	675 161 675 101	675 801	AC-675801
GRE96fw_metade da área	675 074 675 075	675 094 675 095	AC-675801
GRE96fb_metade da 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/Nome do Pdfx	N.º de cat.		N.º de desenho
COS96fb	3916 3915	3925	DWG00120
COS96ft	3370	3628	DWG00120
COS96fw	3362 3912	3922	DWG00120
COS96rt	3360 3367 3788	3795 3358	DWG01123
COS96ft_metade da área	3690 3695	3697	DWG00122
COS384fb	3708 3709	3710	DWG00679
COS384ft	3680 3700	3701 3702	DWG00679
COS384fw	3703 3704	3705	DWG00679
COR96fb fundo transparente	3631		DWG00678
COR96fw fundo transparente	3632		DWG00678
COR96fb metade da área	3694		DWG00123
COR96fw metade da área	3693		DWG00123
COR96fb metade da área fundo transparente	3880		DWG01471
COR96fw metade da área fundo transparente	3883		DWG01471
COR96fc UV transparente	3635		DWG00678
COR96fc metade da área UV transparente	3679		DWG00678
COR384fb fundo transparente	3711		DWG00682
COR384fw fundo transparente	3706		DWG00682
COR384fc UV transparente	3675		DWG01479
Nunclon			
NUN96ft	439 454 442 404 475 094	269 620 269 787	MTP-0001
NUN384ft	242 765 242 757 164 688	464 718 265 196	MTP-0002
NUN384fb	264 556 164 564	460 518	MTP-0002
NUN384fw	264 572 164 610	460 372	MTP-0002

Fabricante/Nome do Pdfx	N.º de cat.		N.º de desenho
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 plano preta	30122298		—
TEC384fb: Tecan 384 plano preta	30122299		—
TEC96fw: Tecan 96 plano branca	30122300		—
TEC384fw: Tecan 384 plano branca	30122301		—
TEC24ft_cell: Tecan 24 cultura celular plano transparente	30122302		—
TEC48ft_cell: Tecan 48 cultura celular plano transparente	30122303		—
TEC96ft_cell: Tecan 96 cultura celular plano transparente	30122304		—
TEC384ft_cell: Tecan 384 cultura celular plano transparente	30122305		—
TEC96fb_cell_clear: Tecan 96 cultura celular plano preto, fundo transparente	30122306		—
TEC384fb_cell_clear: Tecan 384 cultura celular plano preto, fundo transparente	30122307		—
NanoQuantPlate	—		MTP-0007
PerkinElmer			

Fabricante/Nome do Pdfx	N.º de cat.	N.º de desenho
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: As dimensões aplicam-se a OptiPlates de 384 poços

Tabela 1: Ficheiros de definição da placa e números de catálogo correspondentes

5.12.3 Detecção de luminescência



PRECAUÇÃO

LIGUE O INSTRUMENTO PELO MENOS 15 MINUTOS ANTES DE INICIAR UMA MEDIÇÃO DE LUMINESCÊNCIA. ALGUNS COMPONENTES TÊM DE AQUECER PARA GARANTIR CONDIÇÕES ESTÁVEIS PARA A MEDIÇÃO.

O sistema de deteção de luminescência do leitor Infinite utiliza a técnica de medição de contagem de fóton único. Esta baseia-se num PMT de luminescência especial com um circuito de medição apropriado. Esta técnica é muito resistente a ruídos. É o método preferido para a medição de níveis de luminosidade muito baixos.

Para os melhores desempenhos, é aconselhável utilizar placas brancas para medições de luminescência. Para mais detalhes, consulte 4.9 Otimização de medições de luminescência.



Nota

Os resultados das medições de luminescência são sempre apresentados em contagens por segundo (cps).



PRECAUÇÃO

O INSTRUMENTO TEM DE SER COLOCADO NUM LOCAL AFASTADO DA LUZ SOLAR DIRETA. UMA ILUMINAÇÃO > 500 LUX PODE INFLUENCIAR NEGATIVAMENTE AS MEDIÇÕES DE LUMINESCÊNCIA.

6. Controlo de qualidade

6.1 Testes periódicos de controlo de qualidade

Dependendo da utilização e da aplicação, recomendamos uma avaliação periódica do instrumento na Tecan Austria.

Os testes descritos nas secções que se seguem não substituem uma avaliação completa realizada pelo fabricante ou pelos distribuidores autorizados. Porém, os testes podem ser efetuados periodicamente pelo utilizador, a fim de verificar os aspetos importantes para o desempenho do instrumento.

Os resultados são fortemente influenciados por erros de pipetagem e de definição dos parâmetros do instrumento; por conseguinte, siga atentamente as instruções. O utilizador deve determinar os intervalos apropriados para estes testes com base na frequência de utilização do instrumento.

Recomendamos que adapte estes testes e os critérios de aceitação à aplicação principal do laboratório. Idealmente, estes testes têm de ser realizados com as placas, o fluoróforo, os amortecedores, os volumes e todas as definições apropriadas (filtros, flashes, atrasos, etc.) próprios do laboratório.



PRECAUÇÃO

ANTES DE INICIAR MEDIÇÕES, CERTIFIQUE-SE DE QUE A POSIÇÃO A1 DA MICROPLACA ESTÁ INSERIDA CORRETAMENTE. A POSIÇÃO DO POÇO A1 TEM DE SE SITUAR NO LADO ESQUERDO SUPERIOR.



PRECAUÇÃO

ESTA SECÇÃO FORNECE INSTRUÇÕES SOBRE COMO VERIFICAR AS ESPECIFICAÇÕES DO INSTRUMENTO. SE OS RESULTADOS DESTES TESTES DE CONTROLO NÃO SE SITUAREM DENTRO DAS ESPECIFICAÇÕES OFICIAIS DO INSTRUMENTO, CONTACTE O SEU CENTRO DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA LOCAL.

6.2 Especificações - Critérios de aceitação/falha



Nota

Todas as especificações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

A tabela que se segue fornece uma visão geral dos critérios de aceitação/falha para o teste das especificações do leitor Infinite.

Especificação	Critérios de aceitação/falha
Sensibilidade da fluorescência do topo	< 20 pM de fluoresceína
Uniformidade da fluorescência do topo	< 3% CV
Precisão da fluorescência do topo	< 2% CV
Sensibilidade da fluorescência do fundo	100 pM
Uniformidade da fluorescência do fundo	< 3% CV
Precisão da fluorescência do fundo	< 2% CV
Sensibilidade da fluorescência resolvida no tempo (apenas configurações F do Infinite)	< 150 fM (com dicróico 510) < 3 pM (com espelho de 50%)
Precisão da fluorescência resolvida no tempo (apenas configurações F do Infinite)	< 2% CV
Precisão FP (apenas configurações F do Infinite)	< 5 mP
Sensibilidade da luminescência tipo Glow	< 3 fmol/poço
Sensibilidade da luminescência tipo Flash	< 80 amol/poço
Exatidão de absorvância	0 – 2 OD: $\leq \pm 1\% + 10 \text{ mOD}$ 2 – 3 OD: $\leq \pm 2,5\%$
Planidade de base de absorvância (1 sigma)	< $\pm 10 \text{ mOD}$
Exatidão do comprimento de onda de absorvância	$\leq \pm 1.5 \text{ nm } \lambda > 315 \text{ nm};$ $\leq \pm 0.8 \text{ nm } \lambda \leq 315 \text{ nm}$
Especificações da tina (apenas configurações M do Infinite)	Critérios de aceitação/falha
Exatidão de absorvância	0 – 2 OD: $\leq \pm 1\% + 10 \text{ mOD}$ 2 – 3 OD: $\leq \pm 2,5\%$
Planidade de base de absorvância (1 sigma)	< $\pm 10 \text{ mOD}$

6.3 Especificações - Instruções de teste

6.3.1 Fluorescência do topo

Para o leitor Infinite com a opção **Fluorescence Top** (Fluorescência do topo), podem ser realizados os seguintes testes para comprovar as especificações:

- Sensibilidade
- Uniformidade
- Precisão

Estas instruções de teste são válidas para o leitor Infinite:

- Configurações F do Infinite
- Configurações M do Infinite
- Versão espectralmente melhorada

Sensibilidade

Realize a seguinte medição para determinar o limite de deteção de fluoresceína:

Parâmetros de medição:

Parâmetros	Definição
Modo de leitura	Fluorescência do topo
Comprimento de onda Ex	Configurações F do Infinite: 485 (20) nm Configurações M do Infinite: 485 nm
Comprimento de onda Em	Configurações F do Infinite: 535 (25) nm Configurações M do Infinite: 535 nm
Número de flashes	25
Tempo de integração	40
Tempo de repouso	0
Ganho	Ótimo
Tipo de placa	GRE96fb

Esquema da placa:

Pipeta 200 µl de 1 nM de fluoresceína ou de solução de branco (0,01 M de NaOH) nos poços apropriados de acordo com o esquema da placa:

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

Material/reagentes:

- 1 nM de fluoresceína (em 0,01 M de NaOH) (fluoresceína sal de sódio, Sigma F6377)
- 0,01 M de NaOH (=branco) (granulados de NaOH, n.º de artigo Merck 6495 ou Sigma S8045)
- 1 placa Greiner de 96 poços preta
- Pipeta de 200 µl + pontas

Cálculo de limite de deteção (sensibilidade):

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

Concentration _F	Concentração do fluoróforo em unidades pM
mean _F	Valor RFU médio de poços cheios de fluoróforo
mean _B	Valor RFU médio de poços cheios de branco
stdev _B	Desvio padrão de valores RFU de poços cheios de branco

O resultado da fórmula **Limite de deteção** determina a sensibilidade em unidades pM.

Uniformidade

Realize a seguinte medição para determinar a **uniformidade**:

Parâmetros de medição:

Parâmetros	Definição
Modo de leitura	Fluorescência do topo
Comprimento de onda Ex	Configurações F do Infinite: 485 (20) nm Configurações M do Infinite: 485 nm
Comprimento de onda Em	Configurações F do Infinite: 535 (25) nm Configurações M do Infinite: 535 nm
Número de flashes	25
Tempo de integração	40
Tempo de repouso	0
Ganho	Ótimo
Tipo de placa	GRE96fb

Esquema da placa:

Pipeta 200 µl de 1 nM de fluoresceína ou de solução de branco (0,01 M de NaOH) nos poços apropriados de acordo com o esquema da placa:

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

Material/reagentes:

- 1 nM de fluoresceína (em 0,01 M de NaOH) (fluoresceína sal de sódio, Sigma F6377)
- 0,01 M de NaOH (=branco) (granulados de NaOH, n.º de artigo Merck 6495 ou Sigma S8045)
- 1 placa Greiner de 96 poços preta
- Pipeta de 200 µl + pontas

Cálculo de uniformidade:

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

mean _F	Valor RFU médio de poços cheios de fluoróforo
stdev _F	Desvio padrão de valores RFU de poços cheios de fluoróforo

O resultado da fórmula determina a uniformidade em % CV.

Precisão

Realize a seguinte medição para determinar a precisão/reprodutibilidade:

Parâmetros de medição:

Parâmetros	Definição
Modo de leitura	Fluorescência do topo
Comprimento de onda Ex	Configurações F do Infinite: 485 (20) nm Configurações M do Infinite: 485 nm
Comprimento de onda Em	Configurações F do Infinite: 535 (25) nm Configurações M do Infinite: 535 nm
Número de flashes	25

Parâmetros	Definição
Tempo de integração	40
Tempo de repouso	0
Ganho	Ótimo
Tipo de placa	GRE96fb
Parte da placa	A1
Cinética	20 ciclos
Intervalo de tempo	Mínimo

Esquema da placa:

Pipeta 200 µl de 1 nM de fluoresceína ou de solução de branco (0,01 M de NaOH) nos poços apropriados de acordo com o esquema da placa:

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

Material/reagentes:

1 nM de fluoresceína (em 0,01 M de NaOH) (fluoresceína sal de sódio, Sigma F6377)
 0,01 M de NaOH (=branco) (granulados de NaOH, n.º de artigo Merck 6495 ou Sigma S8045)
 1 placa Greiner de 96 poços preta
 Pipeta de 200 µl + pontas

Cálculo de precisão:

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

mean _{poçoA1}	Valor RFU médio do poço A1 ao longo da cinética de 20 ciclos
stdev _{poçoA1}	Desvio padrão de valores RFU do poço A1 ao longo dos 20 ciclos

O resultado da fórmula determina a precisão em % CV.

6.3.2 Fluorescência do fundo

Para o leitor Infinite com a opção **Fluorescence Bottom** (Fluorescência do fundo), podem ser realizados os seguintes testes para comprovar as especificações:

- Sensibilidade
- Uniformidade
- Precisão/repetibilidade

Estas instruções de teste são válidas para o leitor Infinite:

- Configurações F do Infinite
- Configurações M do Infinite
- Versão espectralmente melhorada

Sensibilidade

Realize a seguinte medição para determinar o limite de deteção de fluoresceína:

Parâmetros de medição:

Parâmetros	Definição
Modo de leitura	Fluorescência do fundo
Comprimento de onda Ex	Configurações F do Infinite: 485 (20) nm Configurações M do Infinite: 485 nm
Comprimento de onda Em	Configurações F do Infinite: 535 (25) nm Configurações M do Infinite: 535 nm
Número de flashes	25
Tempo de integração	40
Tempo de repouso	0
Ganho	Ótimo
Tipo de placa	GRE96fb

Esquema da placa

Pipeta 200 µl de 25 nM de fluoresceína ou de solução de branco (0,01 M de NaOH) nos poços apropriados de acordo com o esquema da placa:

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

Material/reagentes:

25 nM de fluoresceína (em 0,01 M de NaOH) (fluoresceína sal de sódio, Sigma F6377)
 0,01 M de NaOH (=branco) (granulados de NaOH, n.º de artigo Merck 6495 ou Sigma S8045)
 1 placa Greiner µClear de 96 poços, preta com fundo transparente
 Pipeta de 200 µl + pontas

Cálculo de limite de deteção (sensibilidade):

Ver 6.3.1 Fluorescência do topo: Sensibilidade.

Uniformidade

Realize a seguinte medição para determinar a uniformidade:

Parâmetros de medição:

Parâmetros	Definição
Modo de leitura	Fluorescência do fundo
Comprimento de onda Ex	Configurações F do Infinite: 485 (20) nm Configurações M do Infinite: 485 nm
Comprimento de onda Em	Configurações F do Infinite: 535 (25) nm Configurações M do Infinite: 535 nm
Número de flashes	25
Tempo de integração	40
Tempo de repouso	0
Ganho	Ótimo
Tipo de placa	GRE96fb

Esquema da placa:

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

Volume de enchimento: 200 µl

Material/reagentes:

25 nM de fluoresceína (em 0,01 M de NaOH)
 (fluoresceína sal de sódio, Sigma F6377)
 0,01 M de NaOH (=branco) (granulados de NaOH, n.º de artigo Merck 6495
 ou Sigma S8045)
 1 placa Greiner µClear de 96 poços, preta com fundo transparente
 Pipeta de 200 µl + pontas

Cálculo de uniformidade:

Ver 6.3.1 Fluorescência do topo: Uniformidade.

Precisão

Realize a seguinte medição para determinar a precisão/reprodutibilidade:

Parâmetros de medição:

Parâmetros	Definição
Modo de leitura	Fluorescência do fundo
Comprimento de onda Ex	Configurações F do Infinite: 485 (20) nm Configurações M do Infinite: 485 nm
Comprimento de onda Em	Configurações F do Infinite: 535 (25) nm Configurações M do Infinite: 535 nm
Número de flashes	25
Tempo de integração	40
Tempo de repouso	0
Ganho	Ótimo
Tipo de placa	GRE96fb
Parte da placa	A1
Cinética	20 ciclos
Intervalo de tempo	Mínimo

Esquema da placa:

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

Volume de enchimento: 200 µl

Material/reagentes:

25 nM de fluoresceína (em 0,01 M de NaOH)
 (fluoresceína sal de sódio, Sigma F6377)
 0,01 M de NaOH (=branco) (granulados de NaOH, n.º de artigo Merck 6495
 ou Sigma S8045)
 1 placa Greiner µClear de 96 poços, preta com fundo transparente
 Pipeta de 200 µl + pontas

Cálculo de precisão:

Ver 6.3.1 Fluorescência do topo: Precisão.

6.3.3 Fluorescência resolvida no tempo

Para o leitor Infinite com a opção **Fluorescence Top** (Fluorescência do topo), podem ser realizados os seguintes testes para comprovar as especificações:

- Sensibilidade
- Precisão/repetibilidade

Estas instruções de teste são válidas para as configurações F do Infinite.

Sensibilidade

Realize a seguinte medição para determinar a sensibilidade:

Parâmetros de medição:

Parâmetros	Definição
Modo de leitura	Fluorescência do topo
Comprimento de onda Ex	Configurações F do Infinite: 340 (35) nm Configurações M do Infinite: 340 nm
Comprimento de onda Em	Configurações F do Infinite: 612 (10) nm Configurações M do Infinite: 617 nm
Número de flashes	25
Tempo de integração	400
Atraso	100
Tempo de repouso	0
Ganho	Ótimo
Tipo de placa	GRE96fw

Esquema da placa:

Pipeta 200 µl de 1 nM de solução de európio ou de solução de branco (solução de melhoria) nos poços apropriados de acordo com o esquema da placa:

<>	1	2	3	4	5	...
A	1 nM de európio	Branco	Branco	Branco	Branco	
B						
C						
D						
E						
F						
G						
H						

Material/reagentes:

1 nM de európio (B119-100, HVD Live Sciences)
 Solução de melhoria (=branco) (1244-105, HVD Live Sciences)
 1 placa Greiner de 96 poços branca
 Pipeta de 200 µl + pontas

Cálculo de limite de deteção (sensibilidade):

Ver 6.3.1 Fluorescência do topo: Sensibilidade.

Precisão

Realize a seguinte medição para determinar a precisão/reprodutibilidade:

Parâmetros de medição:

Parâmetros	Definição
Modo de leitura	Fluorescência do topo
Comprimento de onda Ex	Configurações F do Infinite: 340 (35) nm Configurações M do Infinite: 340 nm
Comprimento de onda Em	Configurações F do Infinite: 612 (10) nm Configurações M do Infinite: 617 nm
Número de flashes	25
Tempo de integração	400
Atraso	100
Tempo entre movimento e flash	0
Ganho	Ótimo
Tipo de placa	GRE96fw
Parte da placa	A1
Cinética	20 ciclos
Intervalo de tempo	Mínimo

Esquema da placa:

Consulte 6.3.3 Fluorescência resolvida no tempo Precisão.

Cálculo de precisão:

Ver 6.3.1 Fluorescência do topo: Precisão.

6.3.4 Polarização de fluorescência (apenas Infinite F Plex)

Para o Infinite F Plex com a opção **Fluorescence Polarização** (Polarização de fluorescência), podem ser realizados os seguintes testes para comprovar as especificações:

- Precisão/repetibilidade

Estas instruções de teste são válidas apenas para o Infinite F Plex:

- Versão espectralmente melhorada

Precisão

Realize a seguinte medição para determinar a precisão:

Parâmetros de medição:

Parâmetros	Definição
Modo de leitura	Polarização de fluorescência
Comprimento de onda Ex	485 (20) nm
Comprimento de onda Em	535 (25) nm
Número de flashes	25
Tempo de integração	40
Atraso	0
Tempo entre movimento e leitura	0
Ganho	Ótimo
Tipo de placa	GRE96fb
Referência de/para	A1 – D1
Branco de referência de/para	A2 – D2
Valor de referência	20 mP
Branco de medição de/para	igual a branco de referência

Esquema da placa:

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

Volume de enchimento: 200 µl/poço

Material/reagentes:

- 1 nM de fluoresceína (em 0,01 M de NaOH) (fluoresceína sal de sódio, Sigma F6377)
- 0,01 M de NaOH (=branco) (granulados de NaOH, n.º de artigo Merck 6495 ou Sigma S8045)
- 1 placa Greiner de 96 poços, preta, fundo plano
- Pipeta de 200 µl + pontas

Cálculo de precisão:

A precisão é calculada a partir dos poços cheios de fluoresceína. A precisão corresponde a uma vez o desvio padrão dos valores mP dos poços de fluoresceína.

6.3.5 Luminescência Glow

Para o leitor Infinite com a opção **Luminescence** (Luminescência), podem ser realizados os seguintes testes para comprovar as especificações de sensibilidade:

Sensibilidade

Realize a seguinte medição para determinar a sensibilidade:

Parâmetros de medição:

Parâmetros	Definição
Modo de leitura	Luminescência
Tempo de integração	1000 ms
Tempo de repouso	0
Tipo de placa	GRE96fw
Parte da placa	A1 – D10

Esquema da placa:

Pipeta 200 µl de reagentes ATP nos poços apropriados de acordo com o esquema da 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 (concentração final no poço)
B	Branco (reagente ATP: Tris-EDTA=1:5)
Bx	Branco (poços utilizados para o cálculo da diafonia)

Material/reagentes:

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

1 placa Greiner de 96 poços branca

Pipeta de 200 µl + pontas

Cálculo da sensibilidade (limite de deteção):

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

2*10 ⁻⁸	Concentração de padrão ATP [M]
Stdev _B	Desvio padrão de branco
mean _{ATP}	Média de poços cheios de padrão ATP
mean _B	Média de poços de branco
0,0002	Conversão em mol/poço
1/1e ⁻¹⁵	Conversão em fmol/poço

O resultado da fórmula determina o limite de deteção em fmol/poço.

6.3.6 Exatidão de absorvância

Utilize a placa MultiCheck – para mais detalhes, consulte o Manual de Instruções da placa MultiCheck.

6.3.7 **Exatidão do comprimento de onda de absorvância**

A exatidão do comprimento de onda define o desvio dos comprimentos de onda de medição configurados em relação ao comprimento de onda nominal. Este teste só é válido para as configurações M do Infinite.

Parâmetros de medição:

Parâmetros	Definição
Modo de leitura	Digitalização de absorvância
Comprimento de onda de medição de/para	300 – 850 nm
Tamanho de fase	1 nm
Número de flashes	25
Tempo de repouso	0
Tipo de placa	Placa MultiCheck

Material/reagentes:

Placa MultiCheck

Cálculo de exatidão do comprimento de onda:

Consulte a folha de dados no Manual de Instruções da sua placa MultiCheck.

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

Max _t	máximo teórico
Max _m	máximo medido

6.3.8 **Planidade de base de absorvância (configurações M do Infinite)**

Realize a seguinte medição para determinar a planidade de base:

Parâmetros de medição:

Parâmetros	Definição
Modo de leitura	Absorvância
Comprimento de onda de medição de/para	300 - 700 nm
Número de flashes	25
Tempo de repouso	0
Tipo de placa	GRE96ft
Parte da placa	A1

Esquema da placa:

Não é necessária qualquer placa para medição – o transportador de placa tem de ser esvaziado para esta medição.

Material/reagentes:

Não são necessários quaisquer materiais ou reagentes para este teste.

Cálculo de planidade de base:

Calcule o desvio padrão.

6.3.9 *Planidade de base de absorvância (configurações F do Infinite)*

Realize as seguintes medições para determinar a planidade de base com o filtro disponível:

Parâmetros de medição:

Parâmetros	Definição
Modo de leitura	Absorvância
Comprimento de onda de medição	340 nm 405 nm 492 nm 590 nm 620 nm 700 nm
Número de flashes	25
Tempo de repouso	0
Tipo de placa	GRE96ft
Parte da placa	A1
Ciclos cinéticos	20, tempo mínimo de intervalo

Esquema da placa:

Não é necessária qualquer placa para medição – o transportador de placa tem de ser esvaziado para esta medição.

Material/reagentes:

Não são necessários quaisquer materiais ou reagentes para este teste.

Cálculo de planidade de base:

Calcule o desvio padrão ao longo de 20 ciclos para cada comprimento de onda.

6.3.10 Tina de absorvância (apenas configurações M do Infinite)

Para as configurações M do Infinite com a opção **Cuvette** (Tina), podem ser realizados os seguintes testes para comprovar a especificação de exatidão:

Exatidão

Realize a seguinte medição para determinar a exatidão de absorvância:

Parâmetros de medição:

Parâmetros	Definição
Modo de leitura	Absorvância
Comprimento de onda de medição	1) 440 nm 2) 635 nm
Número de flashes	25
Tempo entre movimento e leitura	0
Tipo de tina	Tina calibrada, p. ex., Starna RM-N1N35N + uma tina D3

Material:

Material de referência Starna® RM-N1N35N + tina D3
(para mais informações, visite www.starna.co.uk)

Cálculo de exatidão:

Calcule o desvio do valor medido em relação ao valor de referência fornecido com a tina calibrada.

7. Limpeza e manutenção

7.1 Introdução



PRECAUÇÃO

CERTIFIQUE-SE DE QUE A MICROPLACA É RETIRADA DO INSTRUMENTO ANTES DE A PREPARAR PARA A EXPEDIÇÃO. SE FICAR UMA MICROPLACA DENTRO DO INSTRUMENTO, AS SOLUÇÕES FLUORESCENTES PODEM VERTER PARA AS PEÇAS ÓTICAS E DANIFICAR O INSTRUMENTO.

Os processos de limpeza e manutenção são importantes para prolongar a vida útil do instrumento e reduzir a necessidade de manutenção.

Esta secção contém os seguintes procedimentos

- Derrames de líquido
- Desinfecção do instrumento
- Certificado de desinfecção
- Eliminação do instrumento e do material



AVISO

TODAS AS PEÇAS DO INSTRUMENTO QUE ENTREM EM CONTACTO COM MATERIAIS POTENCIALMENTE INFECIOSOS TÊM DE SER TRATADAS COMO ÁREAS POTENCIALMENTE INFECIOSAS.

RECOMENDAMOS QUE CUMpra AS PRECAUÇÕES DE SEGURANÇA EM VIGOR (INCLUINDO A UTILIZAÇÃO DE LUVAS SEM PÓ, ÓCULOS E VESTUÁRIO DE PROTEÇÃO), PARA EVITAR A CONTAMINAÇÃO DE DOENÇAS POTENCIALMENTE INFECIOSAS QUANDO EFETUAR TRABALHOS DE LIMPEZA E QUANDO AJUSTAR O INSTRUMENTO.

7.2 Derrames de líquido

1. Desligue o instrumento.
2. Limpe imediatamente o derrame com um material absorvente.
3. Elimine adequadamente o material contaminado.
4. Limpe as superfícies do instrumento com um detergente suave.
5. No caso de derrames biologicamente perigosos, limpe com B30 (Orochemie, Max-Planck-Str. 27, D-70806 Kornwestheim).
6. Seque as áreas limpas.



AVISO

DESLIGUE SEMPRE O INSTRUMENTO ANTES DE REMOVER QUAISQUER DERRAMES NO INSTRUMENTO. TODOS OS DERRAMES TÊM DE SER TRATADOS COMO SE FOSSEM POTENCIALMENTE INFECIOSOS. POR ESSA RAZÃO, CUMpra SEMPRE AS PRECAUÇÕES DE SEGURANÇA (INCLUINDO A UTILIZAÇÃO DE LUVAS SEM PÓ, ÓCULOS E VESTUÁRIO DE PROTEÇÃO) PARA EVITAR QUALQUER CONTAMINAÇÃO DE DOENÇAS POTENCIALMENTE INFECIOSAS.

ADICIONALMENTE, TODOS OS RESÍDUOS PROVENIENTES DA LIMPEZA TÊM DE SER TRATADOS COMO POTENCIALMENTE INFECIOSOS E A SUA ELIMINAÇÃO TEM DE SER EFETUADA, RESPEITANDO AS INFORMAÇÕES PRESTADAS NO CAPÍTULO 7.4.4 ELIMINAÇÃO.

SE O DERRAME OCORRER DENTRO DO INSTRUMENTO, É NECESSÁRIO CONTACTAR UM TÉCNICO DE REPARAÇÕES.



AVISO

CERTIFIQUE-SE DE QUE A MICROPLACA ESTÁ RETIRADA DO INSTRUMENTO ANTES DE SER PREPARADA PARA A EXPEDIÇÃO. SE FICAR UMA MICROPLACA DENTRO DO INSTRUMENTO, AS SOLUÇÕES FLUORESCENTES PODEM VERTER PARA AS PEÇAS ÓTICAS E DANIFICAR O INSTRUMENTO.

7.3 Limpeza e manutenção do injetor

A manutenção necessária pode variar consoante a sua aplicação. Os procedimentos que se seguem são recomendados para um desempenho perfeito e uma máxima vida útil do sistema de injetor.



PRECAUÇÃO

PARA EVITAR A MISTURA DE REAGENTES E A CONTAMINAÇÃO CRUZADA, LAVE METICULOSAMENTE TODO O SISTEMA DE INJETOR ENTRE AS DIFERENTES APLICAÇÕES QUE UTILIZAM O INJETOR.

7.3.1 *Manutenção diária*

Salvo indicação em contrário do fabricante do kit a utilizar, é necessário realizar as seguintes tarefas pelo menos uma vez por dia:

- Verifique a(s) bomba(s) e a tubagem quanto a fugas.
- Enxague meticulosamente todo o sistema com água destilada ou deionizada após cada utilização e quando a bomba não está a ser utilizada. Se não o fizer, poderá ocorrer a cristalização dos reagentes. Estes cristais podem danificar o vedante da seringa e o obturador da válvula, resultando em fugas.



PRECAUÇÃO

NÃO DEIXE A(S) BOMBA(S) A FUNCIONAR A SECO DURANTE MAIS DE ALGUNS CICLOS.

7.3.2 *Manutenção semanal/periódica*

O sistema de injetor (tubagem, seringas e agulhas de injetor) tem de ser limpo semanalmente para remover sedimentos e evitar a formação de bactérias:

Siga estes passos para limpar o sistema de bomba/injetor com EtOH (etanol) a 70%:

1. Dependendo da aplicação do utilizador, enxague meticulosamente o sistema com amortecedor ou água destilada antes de lavar com EtOH a 70%.
2. Expurgue a bomba com EtOH a 70% com as seringas totalmente baixadas durante 30 minutos.
3. Após o período de 30 minutos, bombeie todo o fluido da seringa e da tubagem para um contentor de resíduos.
4. Lave o sistema de bomba/injetor com EtOH a 70%
5. Lave o sistema de bomba/injetor com água destilada ou deionizada
6. Expurgue o sistema de bomba/injetor com água destilada. Deixe a passagem do fluido cheia para o armazenamento.
7. Limpe a extremidade das agulhas de injetor com um cotonete embebido em etanol a 70% ou isopropanol.



AVISO

RISCO DE INCÊNDIO E EXPLOSÃO!

O ETANOL É INFLAMÁVEL, PODENDO CAUSAR EXPLOSÕES SE NÃO FOR MANUSEADO CORRETAMENTE. CUMPRA AS DEVIDAS PRECAUÇÕES DE SEGURANÇA NO LABORATÓRIO.

7.4 Desinfecção do instrumento

Todas as partes do instrumento que entrem em contacto com amostras de doentes, amostras de controlo positivo ou material perigoso têm de ser tratadas como áreas potencialmente infecciosas.



AVISO

O PROCEDIMENTO DE DESINFEÇÃO DEVE SER REALIZADO DE ACORDO COM OS REGULAMENTOS NACIONAIS, REGIONAIS E LOCAIS.



AVISO

TODAS AS PEÇAS DO INSTRUMENTO QUE ENTREM EM CONTACTO COM MATERIAIS POTENCIALMENTE INFECCIOSOS TÊM DE SER TRATADAS COMO ÁREAS POTENCIALMENTE INFECCIOSAS. RECOMENDAMOS QUE CUMpra AS PRECAUÇÕES DE SEGURANÇA EM VIGOR (INCLUINDO A UTILIZAÇÃO DE LUVAS SEM PÓ, ÓCULOS E VESTUÁRIO DE PROTEÇÃO), PARA EVITAR A CONTAMINAÇÃO DE DOENÇAS POTENCIALMENTE INFECCIOSAS QUANDO EFETUAR O PROCESSO DE DESINFEÇÃO.

Antes de o instrumento ser devolvido ao distribuidor para a assistência técnica, tem de ser desinfetado e tem de se preencher um certificado de desinfecção. Se o certificado de desinfecção não for fornecido, o instrumento pode não ser aceite pelo centro de assistência técnica ou pode ser apreendido pelas autoridades aduaneiras.

7.4.1 Soluções de desinfecção

O instrumento deve ser desinfetado com a seguinte solução:

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

7.4.2 Procedimento de desinfecção



AVISO

O PROCEDIMENTO DE DESINFEÇÃO DEVE SER EFETUADO NUM LOCAL COM BOA VENTILAÇÃO POR PESSOAL QUALIFICADO AUTORIZADO COM LUVAS DESCARTÁVEIS SEM PÓ, ÓCULOS E VESTUÁRIO DE PROTEÇÃO.

Se o laboratório não possuir um procedimento de desinfecção específico, deve ser utilizado o procedimento que se segue para desinfetar as superfícies exteriores do instrumento:

1. Desligue o instrumento da fonte de alimentação principal
2. Separe o instrumento de todos os acessórios usados.
3. Limpe cuidadosamente todas as superfícies exteriores do instrumento com uma compressa de algodão embebida na solução desinfetante.
4. Certifique-se de que é efetuado o mesmo procedimento de desinfecção com o transportador de placas.
5. Repita o procedimento de desinfecção em todos os acessórios removidos ou devolvidos.

6. Depois de realizado o procedimento de desinfecção, certifique-se de que o certificado de desinfecção é preenchido.
7. Preencha um certificado de segurança e cole-o no exterior da caixa para que fique bem visível.

Consulte 7.4.3 Certificado de segurança para obter um exemplo do certificado de segurança, que tem de ser preenchido antes de o instrumento ser devolvido ao centro de assistência técnica para manutenção ou reparação.

7.4.3 Certificado de segurança

Para assegurar a segurança e garantir a saúde dos operadores, pedimos aos nossos clientes que preencham duas cópias do **Certificado de segurança** (fornecido juntamente com o instrumento) e que afixem uma cópia na parte superior da embalagem na qual o instrumento é devolvido (visível a partir do exterior da embalagem de expedição!) e juntem a outra cópia aos documentos de expedição, antes de enviar o instrumento para o centro de assistência para manutenção ou reparação.

O instrumento tem de ser descontaminado e desinfetado por parte da autoridade de funcionamento antes da expedição (ver 7.4.2 Procedimento de desinfecção).

O processo de descontaminação e de desinfecção tem de ser efetuado num local com boa ventilação por pessoal autorizado e qualificado com luvas descartáveis sem pó, óculos e vestuário de proteção.

O procedimento de descontaminação e de desinfecção deve ser realizado de acordo com os regulamentos nacionais, regionais e locais.

Se não for fornecido um Certificado de segurança, o instrumento pode não ser aceite pelo centro de assistência técnica.

Se necessário, o seu centro local de assistência da Tecan pode enviar-lhe uma nova cópia do Certificado de segurança.

7.4.4 Eliminação

Siga os procedimentos laboratoriais para a eliminação de resíduos biologicamente perigosos, de acordo com os regulamentos nacionais e locais.

Assim, obterá instruções sobre como eliminar legalmente os resíduos que se acumulam no instrumento.



PRECAUÇÃO

RESPEITE TODOS OS REGULAMENTOS AMBIENTAIS ESTATAIS E LOCAIS.



ATENÇÃO

DIRETIVA 2002/96/CE RELATIVA A RESÍDUOS DE EQUIPAMENTOS ELÉTRICOS E ELETRÓNICOS (REEE)

IMPACTOS AMBIENTAIS NEGATIVOS ASSOCIADOS AO TRATAMENTO DE RESÍDUOS DE EQUIPAMENTOS ELÉTRICOS E ELETRÓNICOS.

- **NÃO TRATE O EQUIPAMENTO ELÉTRICO E ELETRÓNICO COMO RESÍDUOS URBANOS INDIFERENCIADOS.**
- **SEPARE OS RESÍDUOS DE EQUIPAMENTOS ELÉTRICOS E ELETRÓNICOS.**

7.4.5 **Eliminação do material de embalagem**

Segundo a Diretiva 94/62/CE relativa a embalagens e resíduos de embalagens, o fabricante é responsável pela eliminação do material de embalagem.

Devolução do material de embalagem

Se não pretender ficar com o material de embalagem para utilizações futuras, p. ex., para fins de transporte e armazenamento, devolva a embalagem do produto, as peças sobressalentes e as opções ao fabricante através do técnico de reparações local.

7.4.6 **Eliminação do material de serviço**



AVISO

PODEM SER ASSOCIADOS RISCOS BIOLÓGICOS AOS RESÍDUOS (MICROPLACA) DE PROCESSOS EXECUTADOS NO INSTRUMENTO. TRATE A MICROPLACA USADA, OUTROS DESCARTÁVEIS E TODAS AS SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS DE ACORDO COM OS PRINCÍPIOS DE BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO.

INFORME-SE SOBRE OS PONTOS DE RECOLHA APROPRIADOS E OS MÉTODOS DE ELIMINAÇÃO APROVADOS NO SEU PAÍS, ESTADO OU REGIÃO.

7.4.7 **Eliminação do instrumento**

Contacte o seu representante local de assistência da Tecan, antes de eliminar o instrumento.



PRECAUÇÃO

DESINFETE SEMPRE O INSTRUMENTO ANTES DA SUA ELIMINAÇÃO.

Grau de poluição

2 (IEC/EN 61010-1)

Método de eliminação

Resíduos contaminados



AVISO

DEPENDENDO DAS APLICAÇÕES, ALGUMAS PARTES DO INSTRUMENTO PODERÃO TER ENTRADO EM CONTACTO COM MATERIAIS BIOLÓGICAMENTE PERIGOSOS.

- **CERTIFIQUE-SE DE QUE TRATA ESTE MATERIAL DE ACORDO COM OS REGULAMENTOS E AS NORMAS DE SEGURANÇA APLICÁVEIS.**
- **DESCONTAMINE SEMPRE TODAS AS PEÇAS ANTES DA ELIMINAÇÃO (OU SEJA, LIMPE E DESINFETE).**

8. Resolução de problemas

Erro #	Texto do erro	Descrição
1	Command is not valid (Comando inválido)	Erro não específico no instrumento - protocolo de comunicação do computador. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
2	Parameter out of range (Parâmetro fora dos limites)	Erro não específico no instrumento - protocolo de comunicação do computador. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
3	Wrong number of parameters (Número errado de parâmetros)	Erro não específico no instrumento - protocolo de comunicação do computador. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
4	Invalid parameter (Parâmetro inválido)	Erro não específico no instrumento - protocolo de comunicação do computador. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
5	Invalid Parameter at pos (Parâmetro inválido na pos.)	Erro não específico no instrumento - protocolo de comunicação do computador. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
6	[prefix] is missing ([prefixo] em falta)	Erro não específico no instrumento - protocolo de comunicação do computador. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
7	RS485 Timeout at module [module descr] (RS485 Tempo limite no módulo [descr. do módulo])	Erro interno de comunicação não específico. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
8	Invalid module number [Nr] (Número de módulo inválido [N.º])	Erro não específico no instrumento - protocolo de comunicação do computador. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
9	Binary Transfer command: [cmd] at module [n] (Comando de transferência binário: [cmd] no módulo [n])	Erro interno de comunicação não específico. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
10	Error at command [cmd] at module [n] (Erro no comando [cmd] no módulo [n])	Erro interno de comunicação não específico. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
11	LID open (TAMPA aberta)	As tampas do transportador de placas ou do tabuleiro do filtro estavam abertas durante uma medição ou o instrumento foi utilizado num ambiente muito claro (> 500 LUX). Verifique se a tampa se fecha completamente ou se o ambiente estava demasiado claro.
12	LUMI FIBER broken (FIBRA LUMI partida)	Falha de hardware do módulo de luminescência. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
13	Z Motor out of Safety-Range (Motor Z fora da faixa de segurança)	Erro não específico no instrumento - protocolo de comunicação do computador. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
14	Filter is not defined (Filtro não definido)	Erro não específico no instrumento - protocolo de comunicação do computador. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.

Erro #	Texto do erro	Descrição
15	X drive init error (Erro de inic. da unidade X)	Falha de hardware do módulo de transporte de placas. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
16	Y drive init error (Erro de inic. da unidade Y)	Falha de hardware do módulo de transporte de placas. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
17	z drive init error (Erro de inic. da unidade Z)	Falha de hardware do módulo da unidade Z. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
18	Injector A not available (Injetor A indisponível)	Falha de hardware do injetor A. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
19	Injector B not available (Injetor B indisponível)	Falha de hardware do injetor B. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
20	Injector Init Error: (Erro Inic Filtro:)	Falha de hardware do módulo de injetores. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
21	Invalid Command: [cmd] (Comando inválido: [cmd])	Erro interno de comunicação não específico. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
22	Invalid Operand: [cmd] (Operando inválido: [cmd])	Erro interno de comunicação não específico. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
23	Invalid Command Sequence: [cmd] (Sequência de comando inválida: [cmd])	Erro interno de comunicação não específico. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
24	N/A	N/A
25	Injector not init.: [cmd] (Injetor não inic.: [cmd])	Erro interno de comunicação não específico. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
26	Plunger Overload: (Sobrecarga do êmbolo:)	Erro interno de comunicação não específico. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
27	Valve Overload: (Sobrecarga da válvula:)	Erro interno de comunicação não específico. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
28	Plunger Move not allowed: (Movimento do êmbolo não autorizado:)	Erro interno de comunicação não específico. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
29	Command Overflow (Comando Excesso de fluxo)	Erro interno de comunicação não específico. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
30	Prepare: [s]: Gain:[g], Counts: [cts] (Preparação: [s]: Ganho: [g], Contagens:[cts])	Falha de hardware não específica. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
31	[ERR] at module [mod] (cmd:[cmd]) ([ERR] no módulo [mod] (cmd:[cmd]))	Falha de hardware não específica. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.

Erro #	Texto do erro	Descrição
32	MTP is in Out-Position (MTP na posição para fora)	Erro não específico no instrumento - protocolo de comunicação do computador. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
33	[val] ... not set at (Ratiolabel [n]) ([val] ... não definido em (marca de relação [n]))	Erro não específico no instrumento - protocolo de comunicação do computador. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
34	Injectors are not enabled (Injetores não ativados)	Erro não específico no instrumento - protocolo de comunicação do computador. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
35	Invalid Parameter Length (max: [n] char allowed) (Comprimento de parâmetro inválido (máx.: [n] car. autorizados))	Erro não específico no instrumento - protocolo de comunicação do computador. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
36	Checksum Error (Erro da soma de verificação)	Erro de comunicação na interface USB. Reporte este erro ao seu centro local de assistência.
37	Init Error at module [mod#] (Erro de inic. no módulo [mod#])	Falha de hardware não específica. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
38	Instrument Initialization Error (Erro de inic. do instrumento)	Falha de hardware não específica. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
39	Injector A Communication Timeout (Tempo limite de comunicação do injetor A)	Erro de comunicação na interface do injetor. Reporte este erro ao seu centro local de assistência.
40	Injector B Communication Timeout (Tempo limite de comunicação do injetor B)	Erro de comunicação na interface do injetor. Reporte este erro ao seu centro local de assistência.
41	Prime Wash Error (Erro de expurgação ou de lavagem)	Os injetores ainda estão a expurgar ou a lavar. Aguarde até o processo de expurgação ou de lavagem estar concluído.
42	Instrument is locked (Instrumento bloqueado)	O instrumento é bloqueado após um problema grave de hardware. Para o desbloquear, é necessário reiniciá-lo. Reporte este erro ao seu centro local de assistência.
43	Prepare: [channel]: Wavelength: [lambda] Gain: [g], Counts: [cts] (Preparação: [canal]: Comprimento de onda: [lambda] Ganho: [g], Contagens:[cts])	Falha de hardware não específica. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
44	Steploss Error (Erro de perda de fase)	Falha do atuador. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
45	Sync Scan: Number of EX-Steps does not match EM-Steps (Digit. sinc.: o número de fases de EX não corresponde às fases de EM)	Erro não específico no instrumento - protocolo de comunicação do computador. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
46	Handshake timeout at module (Tempo limite de agitação manual no módulo)	Falha de hardware não específica. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
47	Motor Timeout (Tempo limite do motor)	Falha de hardware não específica. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.

Erro #	Texto do erro	Descrição
48	[Value] is not in defined a Range ([Valor] fora do intervalo definido)	Falha de hardware não específica. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.
49	Sensor is broken Sensor danificado	Falha do sensor. Reporte este erro ao seu centro local de assistência da Tecan.

Índice alfabético

A	
Absorvância	22, 109
Filtro de absorvância	34
Ótica de absorvância	35
Planidade de base	135
Planidade de base com filtro	136
Acessórios	115
Agitar	53
Anisotropia	72
Arranque do instrumento	52
B	
Bloqueios para transporte	47
Borda MRW	76
C	
Certificado de segurança	144
Condensador	26, 32
Controlo de qualidade	121
Controlo de temperatura	52
D	
Definições de fator G	68
Definições de flash	66
Desconectar	102
Descrição geral	11
Desinfecção	143
Certificado de segurança	144
Deteção da intensidade de fluorescência	28
Deteção de absorvância	36
Deteção de absorvância na tina	41
E	
Eliminação	
Instrumento	144
Material de embalagem	145
Material de serviço	145
Espelho de fluorescência do fundo	28
Exatidão	
Absorvância tina	137
Exatidão do comprimento de onda	135
excesso de fluxo	62
Excitação	32
Exemplo i-control	98
Exemplos de tina	
i-control	92
F	
Factor G não calibrado	69
Fator G	72
Feixe de fibra de fluorescência	28
Filtro de banda passante	34
Filtro de emissão	33
Filtros	
recomendados	115
Fluorescência	20
Ótica de fluorescência	27
Ótica de fluorescência do topo	32
Fluorescência resolvida no tempo (TRF)	21
fotodíodo de silicone	27
FRET (transferência de energia de fluorescência por ressonância)	20
Funções do instrumento	103
Funções do software de MRW	77
G	
Gama de branco	68
Gama de tensão	48
Ganho	62
I	
i-control e injetores	86
Injetores	16
Instalação	45
Instruções para teste de especificações	123
Intensidade total	72
Intensidades	72
L	
Lâmpada de flash	26
Leituras múltiplas por poço	74
Ligar o instrumento à corrente	52
Luminescência	22
Luminescência do tipo Glow	110, 111
Luminescência Flash	23
M	
Manutenção	139
Material de embalagem	
Devolução	145
Eliminação	145
Medições cinéticas	53
Microplacas	
tipos recomendados de	115
Modo de distribuição	87
Modo de relação	67
Monitor de flash	27
Monocromador	26
Multimarcação	53
N	
Na hora	112
O	
Ótica de absorvância	36
Ótica de absorvância na tina	41
Ótica de fluorescência do fundo	33

Ótica de luminescência.....	38	Sistema ótico	24
OVER.....	62	Sistema ótico de absorvância	36
P		Sistema ótico de luminescência	38
Paragem	102	Sistema ótico do sistema de fluorescência do fundo.....	25
Parâmetros de sincronização	66	Sistema ótico do sistema de fluorescência do topo.....	24
Polarização	72	Sistema ótico porta de tina.....	41
Polarização de fluorescência.....	68	T	
Porta de tina	40	Tamanho do spot de excitação	28
Precisão		Tamanho MRW	75
Fluorescência do fundo	129	Técnicas de medição	20
Fluorescência do topo	125	Tempo de comutação de comprimento de onda	67
Fluorescência resolvida no tempo	131	Tempo de comutação de filtro.....	67
Polarização de fluorescência	132	Tempo de integração	78
Propriedades do PMT.....	62	Tempo de repouso	67
R		Terminar uma sessão de medição	102
redução em branco.....	68	Tina	
Redução em branco	72	inserção	43
Requisitos de energia.....	48	Tipo MRW.....	74
Roda de filtros PMT	29	Tipos de tinas	42
S		Transferência de energia de fluorescência por ressonância (FRET)	21
Segurança	9	U	
Sensibilidade		Unidade de deteção de luminescência	38
Fluorescência do fundo	127	Uniformidade	
Fluorescência do topo	123	Fluorescência do fundo	128
Fluorescência resolvida no tempo	130	Fluorescência do topo	124
Luminescência Glow.....	133	V	
Sistema de absorvância	34	Visualização de resultados MRW.....	77
Sistema de fonte de luz	31		
Sistema de lentes de intensidade de fluorescência	28		
Sistema de luminescência.....	38		

Centros de assistência da Tecan

Se tiver alguma dúvida ou necessitar de apoio técnico para o seu produto Tecan, contacte o centro local de assistência da Tecan. Visite <http://www.tecan.com/> para as informações de contacto.

Antes de contactar a Tecan, prepare as seguintes informações para lhe podermos dar o melhor apoio técnico possível (consultar a placa de características):

- Nome do modelo do seu produto
- Número de série (SN) do seu produto
- Software e versão do software (se aplicável)
- Descrição do problema e pessoa de contacto
- Data e hora da ocorrência do problema
- Medidas já tomadas para resolver o problema
- As suas informações de contacto (número de telefone e de fax, endereço de correio eletrónico, 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.