TECAN.

Istruzioni per l'uso – Guida di base

SPARK



Documento n.: 30246435

2026-07

Versione documento: 2.5

30246435 03

AVVERTENZA : Prima di utilizzare lo strumento, leggere attentamente e seguire le istruzioni fornite nel presente documento.

Nota

La redazione del presente documento è stata curata con la massima attenzione per evitare errori nel testo o nei diagrammi, tuttavia, Tecan Austria GmbH declina qualsivoglia responsabilità per eventuali errori che si dovessero riscontrare nello stesso.

È consuetudine di Tecan Austria GmbH apportare migliorie ai prodotti non appena siano disponibili nuovi componenti e tecniche. Tecan Austria GmbH, pertanto, si riserva il diritto di modificare le caratteristiche tecniche in qualsiasi momento tramite verifiche, convalide e autorizzazioni adeguate.

Apprezzeremo ogni osservazione in merito al presente documento.

Fabbricante
Tecan Austria GmbH
Untersbergstr. 1A
A-5082 Grödig
T. +43 62 46 89 330
E-mail: office.austria@tecan.com
www.tecan.com

Informazioni sul copyright

Il contenuto di questo documento è proprietà di Tecan Austria GmbH e non può essere copiato, riprodotto o ceduto a terzi senza previa autorizzazione scritta.

Copyright © Tecan Austria GmbH Tutti i diritti riservati.
Stampato in Austria

Dichiarazione di conformità CE

Consultare l'ultima pagina delle presenti Istruzioni per l'uso.

Campo di applicazione - Utilizzo previsto

Consultare il capitolo 2.2 Utilizzo previsto (hardware e software).

Nota sulle istruzioni per l'uso

Istruzioni originali. Il presente documento descrive il lettore per micropiastre multifunzione SPARK. Esso è destinato a fungere da manuale di riferimento e di istruzioni per l'uso. Il presente documento fornisce informazioni su:

- l'installazione dello strumento
- l'uso dello strumento
- la pulizia e la manutenzione dello strumento

Note sulle schermate

Il numero di versione visualizzato nelle schermate potrebbe essere diverso da quello della versione rilasciata correntemente. Le schermate vengono sostituite solo in caso di modifica dei contenuti relativi all'applicazione.

Marchi registrati

I seguenti marchi sono marchi o marchi registrati di Tecan Group Ltd., Männedorf, Svizzera, nei principali paesi:

- Spark®
- Spark® Cyto
- SparkControl™
- Spark-Stack™
- Cell Chip™
- NanoQuant Plate™
- Image Analyzer™
- Te-Cool™
- Tecan®
- TECAN - Logo®

Per i marchi registrati di terzi, consultare https://www.tecan.com/intellectual_property/trademarks.

Avvertenze, precauzioni e note

Nel presente documento vengono utilizzati vari tipi di avvertimenti. Tali avvertimenti mettono in evidenza informazioni importanti o segnalano all'utente situazioni potenzialmente pericolose. Gli avvertimenti che compaiono in questo documento sono i seguenti:



NOTA : Fornisce informazioni utili.



CAUTELA : Indica il rischio di danni allo strumento o di perdita di dati in caso di mancato rispetto delle istruzioni.



AVVERTENZA : Indica il rischio di gravi lesioni a persone, pericolo di morte o danni all'attrezzatura in caso di mancato rispetto delle istruzioni.



AVVERTENZA : Questo simbolo indica la possibile presenza di materiale biologicamente pericoloso. Seguire le adeguate precauzioni relative alla sicurezza di laboratorio.



AVVERTENZA : Questo simbolo indica la possibile presenza di materiali infiammabili e il rischio di incendi. Seguire le adeguate precauzioni relative alla sicurezza di laboratorio.



ATTENZIONE : Effetti negativi sull'ambiente associati al trattamento dei rifiuti.

- Non smaltire apparecchiature elettriche ed elettroniche come rifiuti urbani non differenziati.
- Effettuare una raccolta differenziata dei rifiuti elettrici ed elettronici



AVVERTENZA : Indica la presenza di laser. Non guardare direttamente nel fascio.



SOLO PER GLI ABITANTI DELLA CALIFORNIA:

AVVERTENZA : Questo prodotto può esporvi a sostanze chimiche come il piombo, che è noto allo stato della California come causa di cancro, difetti congeniti o altri danni riproduttivi. Per maggiori informazioni consultare: www.p65warnings.ca.gov/product.

Simboli

CE	Marcatura CE di conformità
UK CA	United Kingdom Conformity Assessed – Conformità valutata nel Regno Unito Il marchio UKCA indica che il prodotto etichettato segue il regolamento applicabile in Gran Bretagna.
	Data di fabbricazione
	Fabbricante
REF	Numero d'ordine
	Prima di utilizzare lo strumento, leggere le Istruzioni per l'uso.
	Simbolo Cina RoHS
SN	Numero di serie
	Esclusivamente monouso
	TÜV SÜD MARK
	Simbolo USB
	Data di scadenza
	Simbolo RAEE

Indice

1 Sicurezza 11
1.1 Introduzione 11
2 Descrizione generale 13
2.1 Strumento 13
2.2 Utilizzo previsto (hardware e software) 13
2.3 Profilo utente 13
2.3.1 Utente professionale – Livello amministratore 13
2.3.2 Utente finale o utente abituale 13
2.3.3 Tecnico dell'assistenza 14
2.4 Multifunzionalità 14
2.4.1 Configurazioni SPARK CYTO 15
2.5 Requisiti della micropiastra 16
2.5.1 Volumi di riempimento/modalità Smooth mode 17
2.5.2 Micropiastre con codice a barre 18
2.6 Pulsanti di controllo integrati nello strumento 19
2.7 LED dello strumento 20
2.8 Vista posteriore 21
3 Installazione dello strumento 23
3.1 Installazione di SPARK 23
3.2 Requisiti di installazione per SPARK 23
3.2.1 Area di lavoro necessaria 23
3.3 Disimballaggio e ispezione 24
3.4 Imballaggi secondari 25
3.5 Pacchetti di opzioni 25
3.6 Aggiornamenti 27
3.7 Rimozione dei blocchi di trasporto 27
3.7.1 Blocco di trasporto porta-piastre 27
3.8 Requisiti di alimentazione 29
3.9 Accensione dello strumento 29
3.10 Spegnimento dello strumento 30
3.11 Preparazione dello strumento per la spedizione 30
3.11.1 Procedura di parcheggio 31
3.11.2 Installazione dei blocchi di trasporto del porta-piastre 32
4 Controllo della piastra 35
4.1 Posizione Z 36
4.2 Agitazione 36
4.3 Posizione di incubazione/raffreddamento 36
4.4 Lid Lifter 36
4.5 Fissaggio dei contenitori per colture cellulari RoboFlask 37
5 Piattaforma SPARK 39
5.1 Moduli e funzioni disponibili 39
6 Specifiche dello strumento 41
7 Pulizia e manutenzione 43
7.1 Introduzione 43
7.2 Manutenzione preventiva 43
7.3 Fuoriuscite di liquidi 44
7.4 Decontaminazione/disinfezione dello strumento 45
7.4.1 Soluzioni per la procedura di disinfezione 45
7.4.2 Procedura di disinfezione 46
7.4.3 Certificato di sicurezza 46
7.5 Smaltimento 47
7.5.1 Smaltimento del materiale d'imballaggio 47

7.5.2 Smaltimento del materiale operativo ... 47
7.5.3 Smaltimento dello strumento ... 48
8 Funzionamento di SPARK con software SparkControl ... 49
8.1 Campo di applicazione ... 49
8.2 Requisiti di sistema ... 49
8.3 Installazione del software ... 51
8.3.1 Disinstallazione/Ripristino dell'installazione ... 51
8.3.2 IoT Client ... 52
8.4 Avvio di SparkControl ... 52
8.4.1 Collegamento degli strumenti ... 52
8.5 Editor di metodo ... 53
8.5.1 Struttura ... 53
8.6 Dashboard ... 56
8.6.1 Struttura ... 56
8.6.2 Il dashboard ... 58
8.7 Avvio di un metodo ... 61
8.7.1 Editor di metodo ... 61
8.7.2 Dashboard ... 61
8.7.3 Avvia da strumento ... 61
8.8 Impostazioni SparkControl ... 62
8.8.1 Struttura ... 62
8.9 Risultati della misurazione ... 63
9 Luminescenza ... 65
9.1 Tecniche di misurazione ... 65
9.2 Specifiche di luminescenza ... 66
9.2.1 Specifiche generali ... 66
9.2.2 Specifiche di prestazione ... 67
9.3 Controllo qualità del modulo per luminescenza ... 67
9.3.1 Test di controllo qualità periodici ... 67
9.3.2 Limite di rilevamento ATP – Piastre a 384 pozzetti ... 68
9.3.3 Limite di rilevamento ATP – Piastre a 1.536 pozzetti ... 69
10 Tecnologia Alpha ... 71
10.1 Principi di base ... 71
10.2 Modulo Alpha ... 71
10.2.1 Filtro ... 71
10.2.2 Ottica ... 72
10.2.3 Laser ... 72
10.2.4 Rilevamento ... 73
10.2.5 Correzione della temperatura ... 73
10.3 Definizione delle misurazioni Alpha ... 73
10.4 Ottimizzazione delle misurazioni basate sulla tecnologia Alpha ... 74
10.4.1 Tempo d'integrazione ... 74
10.4.2 Tempo di eccitazione ... 74
10.4.3 Coperchi scuri per la protezione dalla luce ... 74
10.5 Specifiche Alpha ... 74
10.5.1 Specifiche generali e prestazionali ... 74
10.6 Controllo qualità del modulo Alpha ... 75
10.6.1 Test di controllo qualità periodici ... 75
10.6.2 Limite di rilevamento di AlphaScreen Omnibeads – Piastre a 384 pozzetti ... 75
10.6.3 Uniformità di AlphaScreen Omnibeads – Piastre a 384 pozzetti ... 77
11 Assorbanza ... 79
11.1 Tecniche di misurazione dell'assorbanza ... 79
11.1.1 Assorbanza ... 79
11.1.2 Scansione in assorbanza ... 79
11.2 Modulo cuvette ... 79

11.2.1 Ottica delle cuvette ... 79
11.3 Apparecchi di misurazione ... 80
11.3.1 Micropiastre ... 80
11.3.2 Adattatore per cuvette ... 80
11.3.3 Alloggiamento per cuvette ... 81
11.4 Definizione delle misurazioni di assorbanza ... 82
11.5 Applicazione NanoQuant ... 82
11.6 Specifiche di assorbanza ... 83
11.6.1 Specifiche generali ... 83
11.6.2 Specifiche prestazionali delle micropiastre ... 83
11.6.3 Tempi di misurazione ... 83
11.6.4 Specifiche prestazionali delle cuvette (alloggiamento cuvette) ... 84
11.7 Controllo qualità del modulo per assorbanza ... 84
11.7.1 Test di controllo qualità periodici ... 84
11.7.2 Uniformità piastra a 96 pozzetti ... 84
11.7.3 Controllo qualità della piastra NanoQuant ... 86
12 Fluorescenza ... 87
12.1 Modulo di intensità di fluorescenza ... 87
12.1.1 Opzioni modulo fluorescenza fondo ... 87
12.2 Apparecchi di misurazione ... 87
12.2.1 Filtri ... 87
12.2.2 Slitte dei filtri ... 87
12.2.3 Installazione e rimozione dei filtri ... 88
12.2.4 Inserimento delle slitte dei filtri ... 89
12.2.5 Definizione filtri ... 90
12.2.6 Slitte degli specchi ... 90
12.2.7 Installazione dello specchio dicroico personalizzato ... 91
12.2.8 Definizione dello specchio dicroico personalizzato ... 92
12.3 Definizione delle misurazioni di fluorescenza ... 92
12.4 Modulo polarizzazione di fluorescenza ... 93
12.5 Ottimizzazione delle misure di fluorescenza e polarizzazione di fluorescenza ... 93
12.6 Inject and Read (Iniettare e Leggere) ... 94
12.7 Specifiche di fluorescenza ... 96
12.7.1 Specifiche generali relative all'intensità di fluorescenza (modulo standard e avanzato) 96
12.7.2 Specifiche generali relative alla polarizzazione di fluorescenza (modulo di polarizzazione standard e avanzato) ... 100
12.7.3 Specifiche prestazionali della polarizzazione di fluorescenza ... 101
12.8 Controllo qualità del modulo per fluorescenza ... 102
12.8.1 Test di controllo qualità periodici ... 102
12.8.2 Limite di rilevamento Cima/Fondo – Piastre a 96 pozzetti ... 102
12.8.3 Uniformità Cima/Fondo – Piastre a 96 pozzetti ... 104
13 Modulo cellulare ... 107
13.1 Tecniche di misurazione ... 107
13.1.1 Conta cellulare/percentuale di cellule vive (viabilità) ... 107
13.1.2 Confluenza cellulare ... 107
13.2 Imaging in campo chiaro ... 107
13.3 Apparecchi di misurazione ... 107
13.3.1 Cell Chip ... 107
13.3.2 Adattatore per Cell Chip ... 107
13.3.3 Manutenzione e pulizia dell'adattatore per Cell Chip ... 108
13.4 Definizione delle misurazioni per conta cellulare e confluenza cellulare ... 108
13.5 Applicazione Cell Counting (Conta cellulare) ... 109
13.6 Ottimizzazione delle misurazioni di conta cellulare ... 109
13.6.1 Aumento del numero di immagini ... 109
13.7 Ottimizzazione delle misurazioni di confluenza cellulare ... 109
13.7.1 Usare la funzionalità di rilevamento bordo del pozzetto ... 109

13.7.2 Live Viewer ... 109
13.8 Specifiche del modulo cellulare ... 110
13.8.1 Specifiche generali ... 110
13.8.2 Specifiche conta cellulare/percentuale di cellule vive (viabilità) ... 110
13.8.3 Tempo di misurazione ... 110
13.9 Controllo qualità del Modulo “conta cellulare” ... 111
13.9.1 Test di controllo qualità periodici ... 111
13.9.2 Accuratezza della conta cellulare ... 111
14 Imaging in fluorescenza (Cell Imager) ... 113
14.1 Imaging in campo chiaro ... 113
14.1.1 Ottica ... 113
14.1.2 Rilevamento ... 114
14.1.3 Applicazioni dell’imaging in campo chiaro ... 114
14.2 Imaging in fluorescenza ... 115
14.2.1 Canali di fluorescenza e caratteristiche di eccitazione ed emissione ... 115
14.2.2 Acquisizione dell’immagine ... 116
14.3 Specifiche del Cell Imager ... 116
14.3.1 Generale ... 116
14.3.2 Obiettivi ... 117
14.3.3 Set di filtri a multibanda completi ... 117
14.3.4 Tempi di misurazione ... 117
14.4 Applicazioni Standard ... 118
14.5 Definizione delle misurazioni effettuate con tecniche di imaging in campo chiaro e in fluorescenza ... 119
14.6 Ottimizzazione delle misurazioni effettuate con la tecnica dell’imaging in fluorescenza 121
14.6.1 Live Viewer ... 121
14.6.2 ImageAnalyzer ... 122
14.6.3 Plugin di analisi ... 125
15 Impilatore per micropiastre Spark-Stack ... 127
15.1 Accesso al pannello frontale ... 127
15.1.1 Pulsanti di controllo integrati nello strumento ... 128
15.1.2 Protezione dalla luce per campioni sensibili/coperchi scuri ... 129
15.2 Requisiti delle micropiastre per lo Spark-Stack ... 129
15.2.1 Caricamento di un gruppo di micropiastre nel caricatore per piastre ... 131
15.2.2 Caricamento di una singola micropiastra nel caricatore per piastre ... 134
15.2.3 Caricamento dei caricatori sul modulo Spark-Stack ... 134
15.2.4 Inserimento delle micropiastre direttamente nel lettore SPARK ... 136
15.2.5 Scaricare singolarmente le micropiastre analizzate ... 137
15.2.6 Scaricare un gruppo di micropiastre analizzate ... 138
15.2.7 Pulizia e manutenzione dello Spark-Stack ... 139
15.3 Software ... 140
15.3.1 Avvio della misurazione con impilatore ... 140
15.3.2 Misurazioni cinetiche con impilatore ... 142
15.3.3 Rimpilamento ... 142
16 Iniettori ... 143
16.1 Supporto iniettori ... 143
16.1.1 Iniettore dummy ... 144
16.2 Priming e risciacquo ... 145
16.2.1 Backflush dei reagenti ... 145
16.3 Pulizia e manutenzione dell'iniettore ... 146
16.4 Iniettore compatibilità con i reagenti ... 147
16.5 Esecuzione di misurazioni con iniettori ... 148
16.6 Riscaldatore e agitatore magnetico ... 148
16.6.1 Pallone da laboratorio e barra di agitazione magnetica ... 148
16.7 Specifiche dell'iniettore ... 149
16.7.1 Specifiche tecniche dell’iniettore ... 149

16.7.2 Specifiche prestazionali dell'iniettore 149
16.7.3 Specifiche del riscaldatore/ agitatore 149
16.8 Controllo qualità del modulo iniettore 150
16.8.1 Test di controllo qualità periodici 150
16.8.2 Accuratezza dell'iniettore 150
17 Controllo ambientale 153
17.1 Modulo di riscaldamento 153
17.1.1 Impostazioni software per il controllo della temperatura 153
17.2 Sistema di raffreddamento 154
17.2.1 Impostazione del sistema di raffreddamento liquidi 154
17.2.2 Procedura di collegamento 155
17.2.3 Accensione del dispositivo di raffreddamento liquidi esterno 157
17.2.4 Messa in funzione del modulo di raffreddamento integrato (Te-Cool) 158
17.2.5 Impostazioni software per il controllo della temperatura 158
17.2.6 Funzione di allarme/Risoluzione dei problemi 159
17.2.7 Manutenzione 159
17.3 Controllo gas 160
17.3.1 Sicurezza gas 160
17.3.2 Collegamento gas 161
17.3.3 Bombole di CO_2 e N_2 (non incluse nella fornitura) 163
17.3.4 Impostazioni software per il controllo del gas 164
17.3.5 Controllo manuale del gas 164
17.3.6 Controllo del gas tramite il metodo 165
17.3.7 Allarme acustico 166
17.4 Controllo dell'umidità 167
17.4.1 Humidity Cassette Standard / Cyto 167
17.4.2 Procedura di manipolazione 169
17.4.3 Impostazioni software 170
17.5 Specifiche per il controllo ambientale 171
17.5.1 Riscaldamento 171
17.5.2 Raffreddamento 171
17.5.3 Controllo gas 171
17.5.4 Controllo dell'umidità 171
18 Applicazione NanoQuant 173
18.1 Nucleic Acid Quantitation App 173
18.1.1 Criteri di convalida dei risultati della misurazione del bianco 174
18.1.2 Ripetizione della procedura di misurazione del bianco 174
18.1.3 Avvio delle misurazioni 174
18.2 Labeling Efficiency App 174
18.3 Protein Quantitation App 175
18.3.1 Criteri di convalida dei risultati della misurazione del bianco 175
18.3.2 Ripetizione della procedura di misurazione del bianco 175
18.4 Manutenzione della piastra NanoQuant 176
18.4.1 Pulizia con bagno a ultrasuoni 176
18.4.2 Pulizia con salvietta Kimwipe 176
19 Conta cellulare in cell chip 177
20 Applicazione Cuvette 179
21 Risoluzione dei problemi 181
21.1 Errori e avvisi di SparkControl 181
21.2 Spark Services Manager 191
Indice alfabetico 193
Assistenza clienti Tecan 195

1 Sicurezza

1.1 Introduzione

- Quando si utilizza il prodotto, seguire sempre le precauzioni di sicurezza di base per ridurre il rischio di infortuni, incendi o scosse elettriche.
- Leggere e comprendere tutte le informazioni presenti nelle Istruzioni per l'uso. Se non si leggono, comprendono o seguono tali istruzioni, ne potrebbero risultare un cattivo funzionamento dello strumento, danni allo stesso o lesioni al personale che lo utilizza.
- Osservare tutte le indicazioni di AVVERTENZA e di CAUTELA riportate nel presente documento.
- Non aprire mai lo strumento quando è collegato a una fonte di alimentazione.
- Non forzare mai una micropiastra nello strumento.
- Seguire le precauzioni relative alla sicurezza di laboratorio, come indossare dispositivi di protezione (guanti, camice, occhiali, ecc.) e applicare procedure di sicurezza di laboratorio approvate.



CAUTELA : Per garantire il funzionamento ottimale dello strumento SPARK, è necessario sottoporlo a una procedura di manutenzione annuale da parte di un tecnico dell'assistenza Tecan.



AVVERTENZA : Per garantire la sicurezza del dispositivo, attenersi alle istruzioni riportate nel presente manuale. Procedure eseguite in modo non corretto potrebbero danneggiare il dispositivo.

Resta sottinteso che il personale addetto all'uso dello strumento, sulla base della propria esperienza professionale, debba avere familiarità con le precauzioni di sicurezza necessarie per la manipolazione di prodotti chimici e sostanze biologicamente pericolose.

Rispettare le seguenti normative e direttive:

- Legge sulla protezione industriale nazionale
- Norme sulla prevenzione degli infortuni
- Schede dati di sicurezza dei produttori dei reagenti



AVVERTENZA : A seconda delle applicazioni, alcune parti dello strumento potrebbero essere state a contatto con materiale infettivo/a rischio biologico. Assicurarsi che lo strumento venga utilizzato esclusivamente da personale qualificato. In caso di interventi manutentivi o qualora si riponga o smaltisca lo strumento, eseguirne sempre la disinfezione come da istruzioni riportate nel presente manuale.



AVVERTENZA : Non aprire lo strumento. Solo i tecnici dell'assistenza Tecan sono autorizzati ad aprire lo strumento. La rimozione o rottura del sigillo di sicurezza rende nulla la garanzia.

2 Descrizione generale

2.1 Strumento

SPARK è un lettore per micropiastre multifunzione compatibile con sistemi robotizzati.

2.2 Utilizzo previsto (hardware e software)

Il lettore per micropiastre multimodale SPARK, caratterizzato da un design modulare, è indicato per l'uso nei laboratori di ricerca. A seconda della configurazione prescelta, lo strumento può essere usato per la misurazione e l'analisi dei dati di assorbanza, fluorescenza, fluorescenza a risoluzione temporale, polarizzazione di fluorescenza e luminescenza di campioni biologici e non biologici, oltre che per l'acquisizione e l'analisi di immagini in campo chiaro e in fluorescenza.

Inoltre, il lettore è adatto sia per misurazioni cinetiche sia dei punti finali con misurazioni mono o multi-etichettatura. Il lettore SPARK è dotato del software SparkControl per il controllo del lettore e la riduzione dei dati.

L'utente deve valutare lo strumento ed eventuali pacchetti per la riduzione dei dati associati rispetto alle proprie analisi specifiche al fine di garantire che le caratteristiche prestazionali specificate vengano soddisfatte. Le caratteristiche prestazionali dello strumento non sono state convalidate per analisi specifiche.

Il lettore multifunzione SPARK è destinato esclusivamente a scopi di ricerca.



CAUTELA : Il sistema deve essere convalidato dai responsabili operativi. È responsabilità di questi ultimi garantire che il lettore SPARK sia stato convalidato per ogni analisi specifica utilizzata sullo strumento.

2.3 Profilo utente

2.3.1 Utente professionale – Livello amministratore

L'amministratore è una persona con un'adeguata formazione, competenza ed esperienza in ambito tecnico. Se il prodotto viene utilizzato come previsto, la persona è in grado di riconoscere ed evitare pericoli.

L'amministratore vanta competenze consolidate ed è in grado di istruire l'utente finale o l'utente abituale in merito ai protocolli delle analisi in relazione a un prodotto Tecan nei limiti dell'utilizzo previsto.

Sono richieste competenze a livello di applicazioni informatiche e una buona conoscenza della lingua inglese.

2.3.2 Utente finale o utente abituale

L'utente finale o utente abituale è una persona con un'adeguata formazione, competenza ed esperienza in ambito tecnico. Se il prodotto viene utilizzato come previsto, la persona è in grado di riconoscere ed evitare pericoli.

Sono richieste competenze a livello di applicazioni informatiche, nonché una buona conoscenza della lingua nazionale del paese di installazione dello strumento e della lingua inglese.

2.3.3 Tecnico dell'assistenza

Il tecnico dell'assistenza è una persona con un'adeguata formazione, competenza ed esperienza in ambito tecnico. Se il prodotto deve essere sottoposto a interventi di assistenza o manutenzione, la persona è in grado di riconoscere ed evitare pericoli.

Sono richieste competenze a livello di applicazioni informatiche e una buona conoscenza della lingua inglese.



NOTA : Per informazioni su date, durata e frequenza dei corsi di formazione, rivolgersi al proprio centro assistenza.

L'indirizzo e il numero di telefono sono reperibili nella seguente pagina Web: http://www.tecan.com/customersupport

2.4 Multifunzionalità

Lo strumento SPARK completo di tutti i moduli è in grado di eseguire le seguenti tecniche di misurazione (per ulteriori informazioni, consultare il capitolo 5 Piattaforma SPARK).

- Assorbanza
- Scansione in assorbanza
- Assorbanza cuvette
- Scansione dell'assorbanza cuvette
- Intensità di fluorescenza Cima (FRET)
- Intensità di fluorescenza Fondo
- Fluorescenza a risoluzione temporale (TRF, TR- FRET)
- Scansione in fluorescenza
- Polarizzazione di fluorescenza
- Inject and Read (Iniettare e Leggere – Iniezione incl. Intensità di Fluorescenza Fondo)
- Luminescenza (Tipo “Bagliore”, “Flash” e “Multicolore”)
- Scansione della luminescenza
- Tecnologia Alpha
- Immagini in campo chiaro (conta cellulare, confluenza cellulare) o
- Imaging in fluorescenza (configurazioni CYTO)

Lo strumento può essere equipaggiato con un massimo di due iniettori, un riscaldatore/agitatore e un impilatore per micropiastre. Funzionalità speciali (come conta cellulare, erogazione del gas e sollevamento del coperchio, controllo della temperatura - riscaldamento e raffreddamento - e controllo dell'umidità) supportano, in particolare, gli studi basati su cellule.

2.4.1 Configurazioni SPARK CYTO

Tutti gli strumenti dotati del sistema di imaging in fluorescenza vengono denominati SPARK CYTO e sono disponibili in quattro diverse configurazioni concepite in base alle esigenze di vari clienti appartenenti al mondo accademico così come al settore biofarmaceutico:

SPARK CYTO 100	**SPARK CYTO 300**	**SPARK CYTO 400**	**SPARK CYTO 500**	**SPARK CYTO 600**
	Assorbanza (Standard)	Assorbanza (Standard)	Assorbanza (Avanzata)	Assorbanza (Avanzata)
	Scansione in assorbanza	Scansione in assorbanza	Scansione in assorbanza	Scansione in assorbanza
Imaging in fluorescenza	Intensità di fluorescenza Cima (Standard, Filtro)	Intensità di fluorescenza Cima (Avanzata, Monocromatore)	Intensità di fluorescenza Cima (Avanzata, Filtro)	Intensità di fluorescenza Cima (Avanzata, Fusion Optics)
	Intensità di fluorescenza Fondo (Standard, Filtro)	Intensità di fluorescenza Fondo (Avanzata, Monocromatore)	Intensità di fluorescenza Fondo (Avanzata, Filtro)	Intensità di fluorescenza Fondo (Avanzata, Fusion Optics)
		Scansione dell'intensità di fluorescenza		Scansione dell'intensità di fluorescenza
	TRF e TR-FRET (Filtro)	TRF e TR-FRET (Monocromatore)	TRF e TR-FRET (Filtro)	TRF e TR-FRET (Avanzata, Fusion Optics)
		Polarizzazione di fluorescenza	Polarizzazione di fluorescenza	Polarizzazione di fluorescenza
	Luminescenza (Standard, multicolore)	Luminescenza (Standard, multicolore)	Luminescenza (Avanzata, multicolore)	Luminescenza (Avanzata, multicolore)
	Scansione in luminescenza	Scansione in luminescenza	Scansione in luminescenza	Scansione in luminescenza
				Tecnologia Alpha

Le caratteristiche delle opzioni del modulo indicate nella tabella soprastante sono descritte nel capitolo 5 Piattaforma SPARK. Tutte le configurazioni CYTO sono provviste di sistema per il controllo ambientale:

- Controllo della temperatura (fino a 42 °C)
- Controllo CO_2 e O_2
- Lid Lifter (sistema di sollevamento coperchio) integrato

Per tutte le configurazioni CYTO sono inoltre disponibili le seguenti funzionalità opzionali:

- Iniettori
- Impilatore
- Humidity Cassette



CAUTELA : Lo SPARK CYTO è dotato di un drive USB interno che contiene i dati di calibrazione specifici dello strumento per una qualità ottimale delle immagini di fluorescenza. Questa unità è visibile in File Explorer con il nome "USB DISK" o "SPARK CYTO". Non espellerla o modificarla per evitare una potenziale perdita di funzionalità per le versioni di SparkControl 4.0 o successive.

2.5 Requisiti della micropiastra

Le tecniche descritte in precedenza consentono di misurare tutte le micropiastre standard con formato da 1 a 384 o 1.536 pozzetti conformi alle seguenti norme ANSI/SBS:

- ANSI/SBS 1-2004 (footprint dimensions)
- ANSI/SBS 2-2004 (height dimensions)
- ANSI/SBS 3-2004 (bottom outside flange dimensions)
- ANSI/SBS 4-2004 (well positions)

SPARK supporta micropiastre fino a 384 pozzetti; moduli avanzati supportano micropiastre fino a 1.536 pozzetti.

Sono supportate altezze di piastra comprese tra 10 mm (senza coperchio) e 24,5 mm (con coperchio). Per le misurazioni dal basso, l'altezza del fondo del pozzetto rispetto al bordo della piastra di supporto non deve essere superiore a 5,5 mm.

Oltre ai suddetti formati di micropiastra, le cuvette in un adattatore, la piastra Tecan NanoQuant, la piastra Tecan MultiCheck e l'adattatore Tecan per Cell Chip possono essere utilizzati con limitazioni per tecniche di misurazione selezionate.



CAUTELA : Tecan Austria GmbH ha prestato la massima attenzione nel creare i file di definizione piastra (.pdfx) forniti insieme allo strumento.

Tecan Austria ha adottato tutte le necessarie precauzioni per garantire che le altezze delle piastre e le profondità dei pozzetti siamo corrette in funzione del tipo di piastra definito. Tali parametri vengono utilizzati per determinare la distanza minima tra la parte superiore della piastra e il soffitto della camera di misurazione. Inoltre, Tecan Austria aggiunge una distanza di sicurezza minima per evitare danni alla camera di misurazione in conseguenza di piccole variazioni a livello di altezza della piastra. Tale aggiunta non influisce sulle prestazioni dello strumento.

Assicurarsi che il file di definizione piastra selezionato corrisponda alla micropiastra effettivamente in uso, in modo che sia possibile calcolare la corretta distanza di sicurezza ed evitare eventuali danni allo strumento.



NOTA : Gli strumenti equipaggiati con il modulo Spark-Stack richiedono micropiastre con requisiti supplementari, consultare il capitolo 15.2 Requisiti delle micropiastre per lo Spark-Stack.

2.5.1 Volumi di riempimento/modalità Smooth mode

CAUTELA : Le seguenti micropiastre possono essere analizzate **esclusivamente** con i volumi di riempimento sotto indicati:

• piastre da 1 pozzetto	<=	15000 µl
• piastre da 4 pozzetti	<=	4500 µl
• piastre da 6 pozzetti	<=	2000 µl
• piastre da 12 pozzetti	<=	1200 µl
• piastre da 24 pozzetti	<=	1000 µl
• piastre da 48 pozzetti	<=	400 µl
• piastre da 96 pozzetti	<=	200 µl
• piastre da 384 pozzetti	<=	100 µl
• piastre da 1536 pozzetti	<=	10 µl

Volumi di riempimento superiori possono causare una fuoriuscita del liquido, con conseguente contaminazione crociata. In aggiunta, il liquido fuoriuscito può danneggiare il dispositivo (ad es., può contaminare le parti ottiche e il morsetto di centraggio).

Se il volume di lavoro indicato nel file di definizione piastra (pdfx) è inferiore ai volumi su indicati, usare il volume di riempimento più piccolo per evitare la fuoriuscita del liquido (ad es., le piastre Corning da 384 pozzetti hanno un volume di lavoro pari a soli 80 µl).

Per i liquidi che hanno una viscosità inferiore a quella delle soluzioni acquose, è necessario inoltre procedere all'ottimizzazione del volume di riempimento durante la procedura di convalida del metodo.

La modalità Smooth **mode** rallenta i movimenti della piastra durante il trasporto. La modalità **Smooth mode** può essere attivata selezionando l'apposita casella nella **striscia Piastra**. Quando questa modalità è in uso, si possono impiegare volumi di riempimento superiori rispetto a quelli su indicati; tuttavia, durante la convalida del metodo è necessario procedere all'ottimizzazione del volume massimo di riempimento per ogni tipo di piastra e per ogni applicazione.

CAUTELA : È necessario procedere all'ottimizzazione del volume di riempimento per ogni tipo di piastra e per ogni applicazione anche nel caso in cui sia attiva la modalità **Smooth mode**.

Se nel metodo di misurazione viene selezionato un formato piastra con meno di 96 pozzetti, la modalità **Smooth mode** sarà selezionata per impostazione predefinita. La modalità **Smooth mode** non è disponibile se si usa il pulsante integrato **Retrai/ Espelli** per inserire o estrarre la piastra**.**

CAUTELA : La modalità **Smooth mode** non è disponibile se si usa il pulsante integrato **Retrai/ Espelli** per inserire o estrarre la piastra.

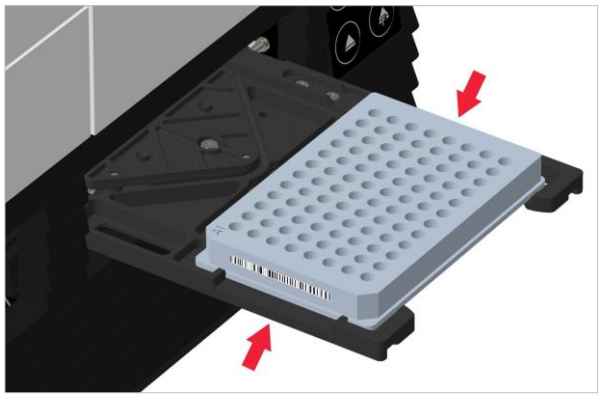
NOTA : I parametri relativi a volumi di riempimento/modalità Smooth mode su elencati si applicano anche alle micropiastre utilizzabili con il modulo Spark-Stack, ad es. piastre contenenti da 6 a 1536 pozzetti (consultare il capitolo 15.2 Requisiti delle micropiastre per lo Spark-Stack).

2.5.2 Micropiastre con codice a barre

Il lettore multifunzione SPARK può essere dotato, in via opzionale, di un lettore di codici a barre, che può essere montato sul lato sinistro o destro del porta-piastre. Ad esempio, per una micropiastra a 96 pozzetti, applicare il codice a barre sul lato sinistro (A) o destro (H) della micropiastra (vedi figura sotto), a seconda del lato in cui è montato il lettore di codici a barre.

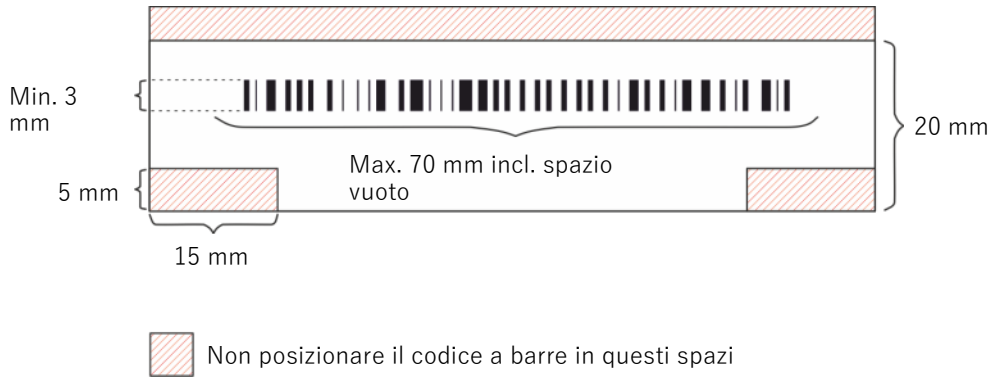
L'altezza minima del codice a barre è 3 mm. Il codice a barre deve essere compreso tra due spazi vuoti di 2 mm ciascuno. La lunghezza massima del codice a barre è 70 mm, inclusi gli spazi vuoti presenti alle due estremità del codice a barre. Il codice a barre deve essere installato sul lato corto della micropiastra, ad almeno 15 mm di distanza sia dal bordo anteriore che dal bordo posteriore, e a 5 mm dal bordo inferiore della micropiastra.

Micropiastra sul porta-piastre:



Applicare il codice a barre sul lato sinistro o destro della micropiastra.

Vista laterale della micropiastra:



CAUTELA : Non usare etichette di codici a barre ingiallite, sporche, piegate, bagnate o danneggiate. Le etichette adesive devono essere piatte e con i bordi intatti. Si raccomanda di verificare la qualità dei codici a barre mediante una Procedura Operativa Standard (POS).

CAUTELA : Il codice a barre non è leggibile se si trova dietro al coperchio della piastra.

I tipi di codici a barre specificati sono:

• CODE 39	• UPC-A	• UPC-E
• EAN-8	• EAN-13	• CODE 128
• CODE 2/5 Interleaved	• CODABAR	• CODE 93

2.6 Pulsanti di controllo integrati nello strumento

Nel lettore sono integrati pulsanti di controllo per semplificare alcune operazioni comuni.





	Il pulsante **ON/OFF** sulla parte anteriore dello strumento viene utilizzato per portare lo strumento in modalità STANDBY.
	Il pulsante **Avvia da strumento** consente di avviare i metodi SparkControl preferiti direttamente dallo strumento. Può essere utilizzato anche per arrestare una misurazione, confermare gli interventi utente definiti dall'utente e per continuare misurazioni cinetiche già messe in pausa tramite il software.
	Il pulsante **Retrai/Espelli** consente di inserire o rimuovere micropiastre dallo strumento senza attivare il software.
	Il pulsante **Espelli filtro** consente di estrarre le slitte dei filtri. Le slitte dei filtri rientrano automaticamente in fase di inserimento.



NOTA: Per spegnere completamente lo strumento, utilizzare l'interruttore generale di alimentazione sul retro dello strumento stesso.



NOTA: Per informazioni relative al funzionamento dei Pulsanti di controllo integrati in combinazione con il modulo impilatore per micropiastre, consultare il capitolo 15 Impilatore per micropiastre Spark-Stack.

2.7 LED dello strumento

Il lettore SPARK è dotato di LED multicolore per segnalare visivamente lo stato di funzionamento/attività dello strumento. Nella tabella sottostante viene fornita una panoramica dei possibili segnali che definiscono quali funzionalità (pulsanti di controllo integrati) sono disponibili in ogni stato dello strumento.

Stato del LED	**Stato strumento**	**Pulsanti di controllo integrati nello strumento**		
		Retrai/ Espelli	Espelli filtro	Avvia da strumento
-	OFF	O	O	O
-	STANDBY	O	O	O
BLU	INATTIVO (non collegato a SparkControl)	X	X	X
MAGENTA	INATTIVO (collegato a SparkControl)	X	X	X
VERDE	IN FUNZIONE	O	O	X
ROSSO LAMPEGGIANTE	ERRORE	O	O	O
GIALLO LAMPEGGIANTE	INTERAZIONE UTENTE	X	O	X
VERDE LAMPEGGIANTE	PAUSA	X	O	X
CIANO LAMPEGGIANTE 5x	AZIONE NON CONSENTITA	O	O	O

Tabella degli stati dei LED e delle funzionalità.
O = funzione non disponibile. X = funzione disponibile.

2.8 Vista posteriore

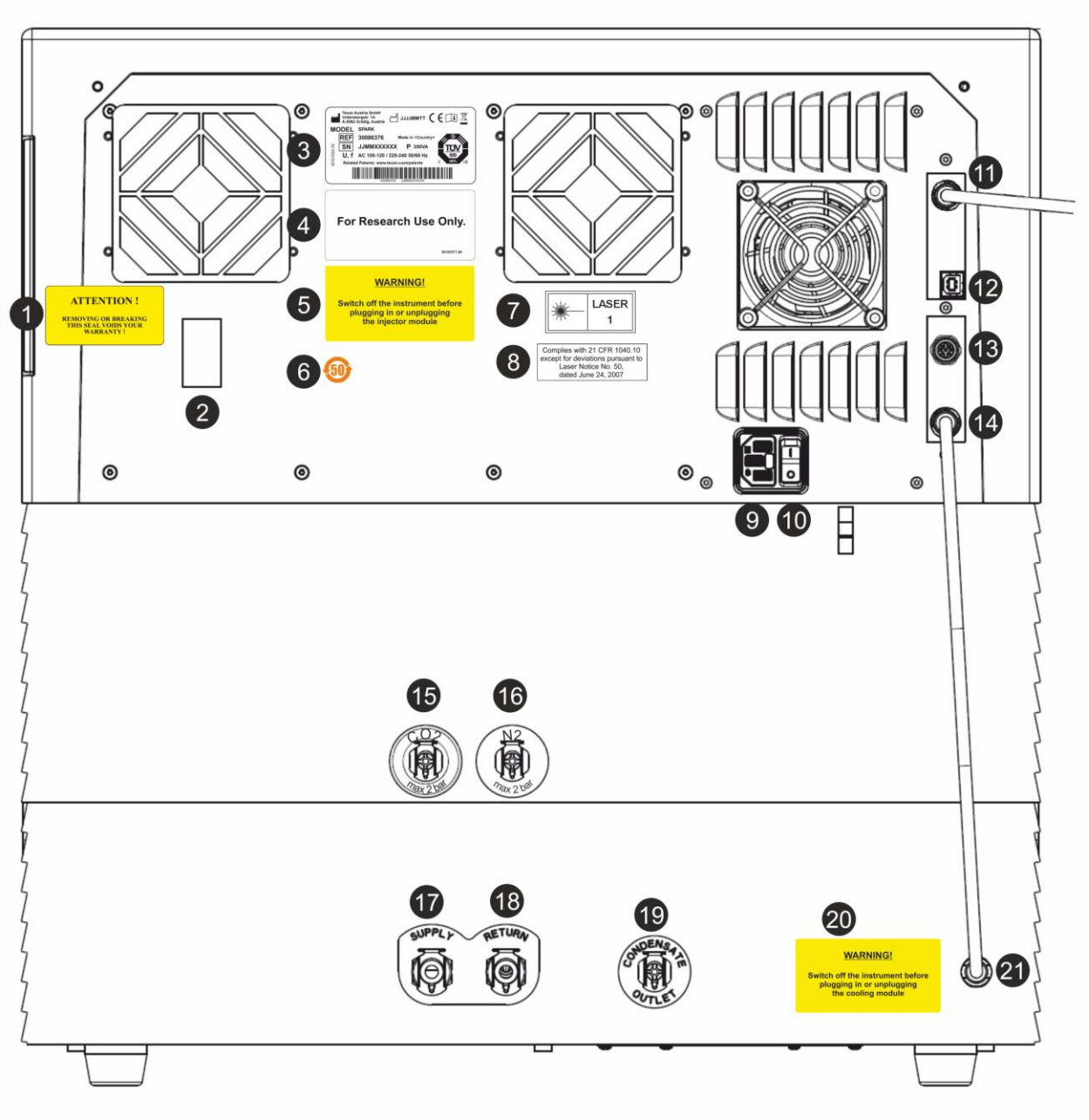
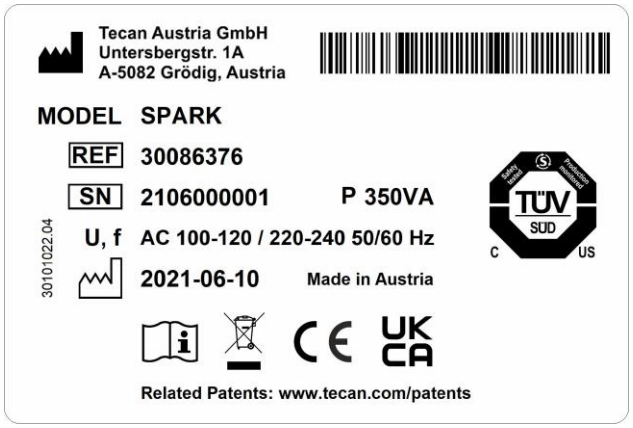


Figura 1: Vista posteriore dello strumento

NOTA : Questa figura è fornita esclusivamente a titolo di esempio. Le etichette presenti sullo strumento dipendono dalle opzioni installate e dal paese di destinazione.

1	Etichetta di garanzia: ATTENZIONE LA RIMOZIONE O ROTTURA DEL SIGILLO RENDE NULLA LA GARANZIA (anche nella parte inferiore dello strumento)
2	Coperchio del sensore di temperatura
3	Targhetta di identificazione (esempio)
4	Etichetta: Solo per scopi di ricerca.
5	Etichetta: AVVERTENZA Spegnere lo strumento prima di collegare o scollegare il modulo iniettore
6	Etichetta: simbolo Cina Simbolo RoHS
7	Etichetta: prodotto laser di Classe 1
8	Etichetta: conforme alla normativa 21 CFR 1040.10, tranne che per la conformità a IEC 60825-1 Ed.3, come descritto nel documento “Laser Notice No. 56”, datato 8 maggio 2019.
9	Presa di alimentazione di rete
10	Interruttore di alimentazione di rete
11	Connessione USB 3.0 per la fotocamera
12	Connessione USB
13	Connessione iniettore
14	Cavo CAN per collegamento al modulo di raffreddamento integrato (Te-Cool)
15	Connessione CO_2 (max 2 bar)
16	Connessione N_2 (max 2 bar)
17	Mandata: raffreddamento liquido
18	Ritorno: raffreddamento liquido
19	Scarico condensa
20	Etichetta: AVVERTENZA Spegnere lo strumento prima di collegare o scollegare il modulo di raffreddamento
21	Cavo CAN collegato allo strumento

Esempio di targhetta d'identificazione



Il contenuto della targhetta d'identificazione (per es., nome del modello e numero dell’articolo) può variare a seconda dello specifico modello.

3 Installazione dello strumento

3.1 Installazione di SPARK

Durante le operazioni di installazione, spostamento o collegamento dello strumento, attenersi alle istruzioni riportate nel presente documento. Tecan declina ogni responsabilità per danni allo strumento o per lesioni personali verificatesi durante tali operazioni.

Assicurarsi che il laboratorio soddisfi tutte le condizioni e i requisiti descritti nel presente capitolo.

3.2 Requisiti di installazione per SPARK

3.2.1 Area di lavoro necessaria

Individuare una posizione in cui installare lo strumento che sia piana, orizzontale, non soggetta a vibrazioni, al riparo dalla luce diretta del sole e priva di polvere, solventi e vapori acidi. Lasciare almeno 10 cm di distanza tra la parte posteriore dello strumento e la parete o altri eventuali dispositivi e 5 cm da altri eventuali dispositivi sia a destra sia a sinistra dello strumento. Per ulteriori informazioni sulle specifiche ambientali, consultare il capitolo 6 Specifiche dello strumento.

Le prestazioni di imaging cellulare del modulo Cell Imager di SPARK sono particolarmente sensibili alle vibrazioni esterne del laboratorio di ricerca, che possono portare a immagini sfocate e/o errori di messa a fuoco automatica. Pertanto, è necessario scegliere un luogo appropriato per installare lo strumento, dove le vibrazioni esterne sono ridotte al minimo, oppure, per ottenere i migliori risultati, utilizzare un tavolo di laboratorio isolato dalle vibrazioni.

Assicurarsi che non sia possibile urtare accidentalmente contro il porta-piastre e il supporto iniettori quando si trovano in posizione estratta. Per la procedura di installazione dell'iniettore e del riscaldatore/agitatore, consultare il capitolo 16 Iniettori.

Per la procedura di installazione del modulo di raffreddamento (Te-Cool), consultare il capitolo 17.2 Sistema di raffreddamento .



NOTA : Il modulo impilatore per micropiastre Spark-Stack deve essere installato da un tecnico del servizio assistenza.

Assicurarsi che l'interruttore di rete e il cavo di rete siano sempre accessibili e liberi da ostruzioni.



CAUTELA : Installare lo strumento in una posizione piana, orizzontale, non soggetta a vibrazioni, al riparo dalla luce diretta del sole e priva di polvere, solventi e vapori acidi. Assicurarsi che non sia possibile urtare accidentalmente contro il porta-piastre e il supporto iniettori quando si trovano in posizione estratta.



CAUTELA : Lasciare almeno 10 cm di distanza tra la parte posteriore dello strumento e la parete o altri eventuali dispositivi e 5 cm da altri eventuali dispositivi sia a destra sia a sinistra dello strumento. Non coprire lo strumento quando è in funzione.



CAUTELA : Non posizionare oggetti pesanti sul coperchio dello strumento. Il carico massimo per il coperchio SPARK è di 20 kg. Tuttavia, il carico deve essere distribuito uniformemente su tutta la superficie del coperchio.



CAUTELA : Utilizzare solo il cavo USB fornito. Lo strumento è stato testato con il cavo USB fornito insieme allo strumento. Tecan Austria non può garantire il corretto funzionamento dello strumento in caso di utilizzo di un cavo USB differente.

3.3 Disimballaggio e ispezione

1. Prima di procedere all'apertura, ispezionare visivamente la confezione per individuare l'eventuale presenza di danneggiamenti.
   Comunicare senza indugio la presenza di danni.
2. Individuare una posizione in cui installare lo strumento che sia piana, orizzontale, non soggetta a vibrazioni, al riparo dalla luce diretta del sole e priva di polvere, solventi e vapori acidi. Lasciare almeno 10 cm di distanza tra la parte posteriore dello strumento e la parete o altri eventuali dispositivi e 5 cm da altri eventuali dispositivi sia a destra sia a sinistra dello strumento. Assicurarsi che non sia possibile urtare accidentalmente contro il porta-piastre e il supporto iniettori quando si trovano in posizione estratta. Assicurarsi che l'interruttore di rete e il cavo di rete siano sempre accessibili e liberi da ostruzioni.
3. Mettere la confezione in posizione verticale e aprirla.
4. Estrarre lo strumento dalla confezione e collocarlo nella posizione scelta. Estrarre lo strumento con cura assicurandosi che sia tenuto da entrambi i lati.
5. Ispezionare visivamente lo strumento per individuare l'eventuale presenza di componenti allentati, piegati o rotti.
   Comunicare senza indugio la presenza di danni.
6. Confrontare il numero di serie sul pannello posteriore dello strumento con il numero di serie della bolla d'accompagnamento.
   Segnalare senza indugio l'eventuale presenza di divergenze.
7. Confrontare il contenuto degli imballaggi secondari all'interno della confezione con quello della bolla d'accompagnamento.
   Segnalare senza indugio l'eventuale presenza di divergenze.
8. Conservare il materiale di imballaggio e i blocchi di trasporto per futuri trasporti.



AVVERTENZA : SPARK, completo di tutti gli accessori, è uno strumento di precisione e pesa circa 50 kg. Per sollevarlo con cura dalla confezione sono necessarie almeno due persone.



CAUTELA : Non sovraccaricare il porta-piastre. Il carico massimo del porta-piastre è di 275 g. Un carico superiore può causare danni allo strumento con conseguente necessità di interventi di riparazione.

3.4 Imballaggi secondari

NOTA : Confrontare sempre il contenuto degli imballaggi secondari con quello della bolla d'accompagnamento.
Segnalare senza indugio l'eventuale presenza di divergenze.

L'imballaggio dello strumento contiene:

- Cavi (USB 2.0 e di rete)
- Software (chiavetta USB)
- Istruzioni per l'uso (opzionale)
- Rapporto di qualità OOB (Out-Of-Box)
- Dichiarazione di conformità CE
- Protocollo di test finale (COC, Certificato di conformità)
- Informativa RoHS
- Adattatore per cuvette
- Procedura di installazione/disinstallazione dei blocchi di trasporto

Eventuali imballaggi secondari dipendono dai moduli installati e possono contenere:

- Slitte per filtro in scatola di metallo (filtro per fluorescenza/modulo Fusion Optics)
- Cuscinetto magnetico (Lid Lifter)
- Kit di flessibili (Gas Control Module)
- Adattatore Tecan (scatola di cartone contenente 15 Cell Chip (contacellule))
- Iniettore dummy (iniettore/predisposizione per iniettore)
- RoboFlask in scatola di metallo (morsetto di centraggio con vite di arresto e vite di ricambio)
- Scatola di metallo con specchio dicroico utente (inclusa chiave a brugola per l'installazione)

3.5 Pacchetti di opzioni

NOTA : Confrontare sempre il contenuto dell'imballaggio con la bolla di accompagnamento. Segnalare senza indugio l'eventuale presenza di divergenze.

L'imballaggio del modulo iniettore per un iniettore (modulo di base) contiene:

- Iniettore in scatola di cartone
- Supporto iniettori
- Supporto flaconi
- Dispositivi di fissaggio in PVC
- Ago in carbonio
- Bicchieri da laboratorio per priming (2 x 1 ml; 1 x 50 ml)
- Flacone da 125 ml (con protezione dalla luce)
- Flacone da 15 ml (con protezione dalla luce)

L'imballaggio del modulo iniettore per il secondo iniettore (modulo di espansione) contiene:

- Iniettore in scatola di cartone
- Supporto flaconi
- Dispositivi di fissaggio in PVC
- Ago in carbonio
- Bicchieri da laboratorio per priming (2 x 1 ml)

- Flacone da 125 ml (con protezione dalla luce)
- Flacone da 15 ml (con protezione dalla luce)

L'opzione riscaldatore/agitatore include i seguenti componenti:

- Modulo riscaldatore/agitatore
- Cavo di rete (modulo di base)
- Alimentazione (modulo di base)
- Bicchiere in vetro da 100 ml (modulo di base e di espansione)
- Barra di agitazione magnetica (modulo di base e di espansione)
- Chiave a brugola

L'opzione NanoQuant include i seguenti componenti:

- Scatola di alluminio per riporre la piastra NanoQuant (scatola in alluminio)
- Piastra NanoQuant
- Dispositivo di pipettatura
- Certificato di sicurezza

L'opzione Humidity Cassette standard include i seguenti componenti:

- Humidity Cassette (cassetta e coperchio)
- Cuscinetto magnetico

L'opzione Cell Imager della Humidity Cassette include i seguenti componenti:

- Cell Imager della Humidity Cassette (cassetta e coperchio)
- Cuscinetto magnetico

L'opzione Te-Cool include i seguenti componenti:

- Dispositivo esterno di raffreddamento a liquido
- Set di tubi
- Tubo della condensa
- Cavo CAN
- Tappi
- Refrigerante concentrato

L'impilatore per micropiastre Spark-Stack si compone dei seguenti elementi (in base all'ordine):

- opzione modulo impilatore
- opzione pila corta
  - kit di 2 caricatori da 30 piastre per singola misurazione
  - coperchi scuri
- opzione pila lunga
  - kit di 2 caricatori da 50 piastre per singola misurazione
  - coperchi scuri

L'opzione Cell Imager include un computer dedicato.

NOTA : Il modulo impilatore per micropiastre Spark-Stack deve essere installato da un tecnico del servizio assistenza.

CAUTELA : Tutti i componenti forniti con lo strumento e tutte le relative parti di ricambio o parti supplementari sono indicati esclusivamente per l'uso con lo strumento e non sono adatti per usi generici.

3.6 Aggiornamenti

Lo strumento si compone di vari moduli e, se necessario, può essere sottoposto ad aggiornamento. Per ulteriori informazioni, contattare il proprio rappresentante locale Tecan.

3.7 Rimozione dei blocchi di trasporto

3.7.1 Blocco di trasporto porta-piastre



CAUTELA : Prima di utilizzare lo strumento, rimuovere il blocco di trasporto.

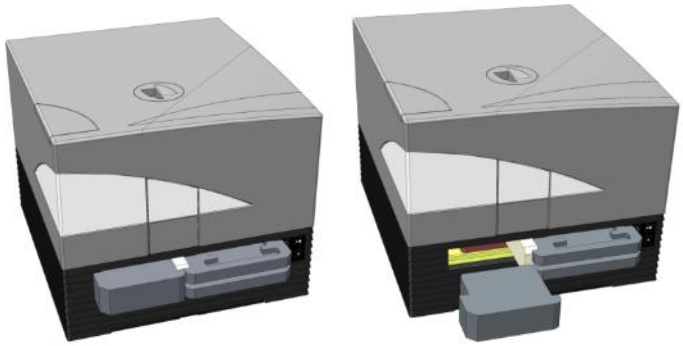
Lo strumento viene fornito con il porta-piastre bloccato in posizione, in modo che non possa essere danneggiato.

Prima di poter utilizzare lo strumento, è necessario rimuovere i blocchi di trasporto (inserti in schiuma) attenendosi alla seguente procedura:

1. Assicurarsi che lo strumento sia scollegato dall'alimentazione di rete.
2. Rimuovere il nastro adesivo dagli sportelli del vano filtro.



3. Rimuovere l'inserto in schiuma dal vano porta-piastre di sinistra (vedere l'immagine sottostante).



4. Estrarre manualmente il porta-piastre afferrando gli inserti in schiuma nel vano porta-piastre di destra (vedere l'immagine sottostante).



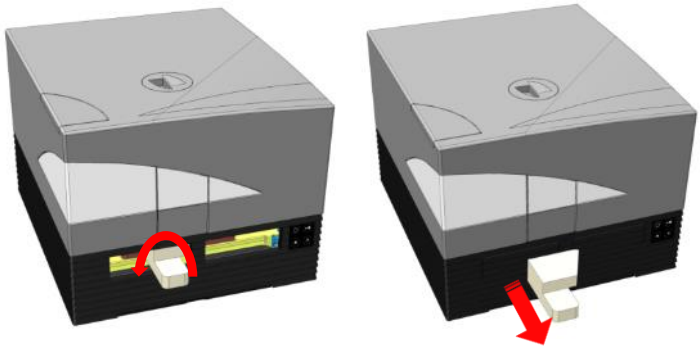
5. Rimuovere prima l'inserto in schiuma superiore, quindi quello inferiore (vedere l'immagine sottostante).



6. Spingere delicatamente con la mano il porta-piastre nello strumento. Deve essere inserito sufficientemente a fondo in modo che lo sportello del vano porta-piastre possa chiudersi (vedere l'immagine sottostante).



7. Ruotare il restante inserto in schiuma di 90° in senso antiorario ed estrarlo dallo strumento (vedere l'immagine sottostante).





CAUTELA : Conservare il materiale di imballaggio e i blocchi di trasporto (inserti in schiuma) per futuri trasporti. Lo strumento deve essere spedito solo con l'imballaggio originale e i blocchi di trasporto installati.

3.8 Requisiti di alimentazione

Lo strumento si adatta in automatico alla tensione dell'alimentazione . Pertanto non è necessario apportare modifiche all'intervallo di tensione. Controllare le specifiche di tensione sul pannello posteriore dello strumento e assicurarsi che la tensione fornita allo strumento sia corretta rispetto alle specifiche.

L'intervallo di tensione va da **100-120 V a 220-240 V**. Se la tensione non è corretta, rivolgersi al proprio distributore

Collegare lo strumento esclusivamente a sistemi di alimentazione elettrica dotati di protezione a terra.



CAUTELA : Non utilizzare lo strumento se l'impostazione della tensione non è corretta. L'accensione dello strumento con una tensione errata provocherà danni allo stesso.



CAUTELA : Non sostituire i cavi di alimentazione principale removibili con altri cavi dalle caratteristiche inadeguate.



NOTA : Questa apparecchiatura è stata esaminata e giudicata conforme ai limiti per un dispositivo digitale di Classe A, ai sensi della parte 15 delle norme FCC e CISPR 11/EN 55011. Questi limiti sono studiati per fornire una protezione adeguata contro le interferenze dannose quando l'apparecchiatura viene utilizzata in un ambiente commerciale. Questa apparecchiatura genera, utilizza e può irradiare energia a radiofrequenza e, se non installata e utilizzata in conformità con il manuale di istruzioni, può causare interferenze dannose alle comunicazioni radio. Il funzionamento di questa apparecchiatura in un'area residenziale può causare interferenze dannose, nel qual caso l'utente è tenuto a correggere l'interferenza a proprie spese.

3.9 Accensione dello strumento



CAUTELA : Prima di eseguire l'accensione dello strumento per la prima volta, lasciarlo a riposo per almeno 3 ore, in modo da evitare la formazione di condensa suscettibile di causare corti circuiti.

1. Assicurarsi che l'interruttore di alimentazione di rete sul pannello posteriore dello strumento sia in posizione OFF.
2. Collegare il computer allo strumento utilizzando solo il cavo di interfaccia USB fornito.
3. Inserire il cavo di alimentazione nella presa di alimentazione di rete (dotata di protezione a terra) sul pannello posteriore dello strumento.
4. Collegare il cavo USB della fotocamera del modulo cellulare (facendolo passare attraverso il pannello posteriore dello strumento) alla porta USB 3.0 del computer.



CAUTELA : La fotocamera del modulo cellulare o del modulo del Cell Imager deve essere collegata alla porta USB 3.0 del computer, in caso contrario può verificarsi un calo delle prestazioni.

5. Tutti i dispositivi collegati devono essere approvati ed elencati come da IEC 60950-1 (Direttiva per la sicurezza delle apparecchiature informatiche) e standard di sicurezza o locali equivalenti.
6. Collegare l'iniettore, se necessario.

7. Collegare il riscaldatore/agitatore, se necessario.

CAUTELA : Spegnere lo strumento prima di collegare o scollegare il modulo iniettore.

CAUTELA : Spegnere lo strumento prima di collegare o scollegare il modulo di raffreddamento.

8. Accendere lo strumento utilizzando l'interruttore di alimentazione di rete sul pannello posteriore dello strumento.
9. Avviare il software per lavorare con lo strumento. Per il controllo dello strumento tramite software, consultare il capitolo 8 Funzionamento di SPARK con software SparkControl.

AVVERTENZA : Non aprire lo strumento quando è in funzione.

3.10 Spegnimento dello strumento

1. Verificare che il porta-piastre sia vuoto.
2. Nel software SparkControl, scollegarsi dallo strumento selezionando Esci dal menu File nell'editor di metodo (per ulteriori informazioni, consultare la Guida di riferimento) o Arresta tramite la barra di navigazione espandibile sul lato sinistro del dashboard.
3. Spegnere completamente lo strumento utilizzando l'interruttore generale di alimentazione sul pannello posteriore dello strumento. In alternativa, portare lo strumento in modalità STANDBY utilizzando il pulsante di comando integrato (pulsante ON/OFF), sulla parte anteriore dello strumento.

NOTA: per spegnere completamente lo strumento alla fine della giornata o dopo aver completato le misurazioni, utilizzare l'interruttore generale di alimentazione sul retro dello strumento stesso.

CAUTELA : Una volta spento, attendere almeno 5 secondi prima di riaccendere lo strumento. In caso contrario, potrebbero verificarsi errori relativi allo strumento.

3.11 Preparazione dello strumento per la spedizione

Prima di spedire uno strumento con il modulo di raffreddamento integrato (Te-Cool), è necessario rimuovere il refrigerante dal sistema di raffreddamento. Tale procedura deve essere effettuata da un tecnico dell'assistenza.

CAUTELA : Non spedire uno strumento con modulo di raffreddamento integrato. Solo i tecnici dell'assistenza Tecan sono autorizzati a preparare lo strumento per il trasporto. Il refrigerante residuo potrebbe danneggiare lo strumento.

Prima di spedire uno strumento provvisto di modulo impilatore per micropiastre (Spark-Stack), è necessario rimuovere l'impilatore dallo strumento. Questa procedura deve essere eseguita da un tecnico del servizio assistenza.



CAUTELA : Non spedire uno strumento con modulo impilatore integrato. Solo i tecnici dell'assistenza Tecan sono autorizzati alla rimozione del modulo impilatore per consentire il trasporto dello strumento o del modulo impilatore.

Prima di spedire lo strumento, eseguire la procedura di parcheggio per evitare danni all'ottica e al porta-piastre (consultare il capitolo 3.11.1 Procedura di parcheggio). Una volta eseguita la procedura di parcheggio, è necessario installare i blocchi di trasporto del porta-piastre (consultare il capitolo 3.11.2 Installazione dei blocchi di trasporto del porta-piastre).

Prima della spedizione, è necessario disinfettare accuratamente lo strumento (inclusi gli iniettori, il riscaldatore/agitatore, la Humidity Cassette, la piastra NanoQuant e qualsiasi altro componente opzionale esterno) (consultare il capitolo 7.4 Decontaminazione/disinfezione dello strumento). Per la manutenzione dell'iniettore, consultare il capitolo 16.3 Pulizia e manutenzione dell'iniettore).



CAUTELA : Spegnere lo strumento prima di collegare o scollegare il modulo iniettore.



CAUTELA : Spegnere lo strumento prima di collegare o scollegare il modulo di raffreddamento.

Lo strumento (inclusi gli iniettori, il riscaldatore/agitatore, la Humidity Cassette, la piastra NanoQuant e qualsiasi altro componente opzionale esterno) deve essere spedito nell'imballaggio originale.



AVVERTENZA : Tenere sempre l'iniettore e il riscaldatore/agitatore separati, in quanto le due unità non sono collegate tra loro. Se vengono trasportate insieme, una delle unità può facilmente cadere e danneggiarsi.

3.11.1 Procedura di parcheggio

1. Verificare che il porta-piastre sia vuoto.
2. Assicurarsi di rimuovere l'iniettore (dummy) dalla relativa porta.
3. Nel software SparkControl, scollegarsi dallo strumento selezionando Esci dal menu File nell'editor di metodo (per ulteriori informazioni, consultare la Guida di riferimento) o Arresta tramite la barra di navigazione espandibile sul lato sinistro del dashboard.
4. Rimuovere le slitte dei filtri utilizzando il pulsante di controllo integrato nella parte anteriore dello strumento.
5. Estrarre il porta-piastre utilizzando il pulsante di controllo integrato nella parte anteriore dello strumento.
6. Premere il pulsante ON/OFF sulla parte anteriore dello strumento per avviare la procedura di parcheggio. L'avvio della procedura di parcheggio potrebbe richiedere alcuni secondi.
7. Spegnere lo strumento utilizzando l'interruttore di alimentazione di rete sul pannello posteriore dello strumento.
8. Installare il blocco di trasporto del porta-piastre (consultare il capitolo 3.11.2 Installazione dei blocchi di trasporto del porta-piastre).

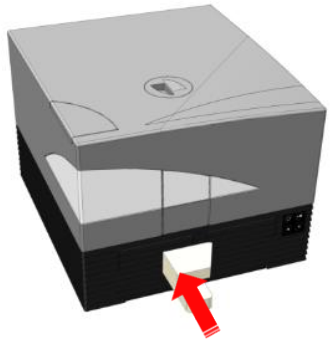


CAUTELA : È necessario eseguire la procedura di parcheggio e installare il blocco di trasporto prima della spedizione. La spedizione dello strumento senza tali misure di sicurezza renderà la garanzia nulla. Per la spedizione, utilizzare l'imballaggio originale.

3.11.2 Installazione dei blocchi di trasporto del porta-piastre

Lo strumento deve essere spedito con il porta-piastre bloccato in posizione, in modo che non possa essere danneggiato. Prima di poter spedire lo strumento, è necessario inserire i blocchi di trasporto (inserti in schiuma) attenendosi alla seguente procedura:

1. Assicurarsi che lo strumento sia scollegato dall'alimentazione di rete.
2. Tenere abbassato lo sportello del vano porta-piastre e introdurre l'inserto in schiuma bianco (mostrato sotto) nel vano di sinistra.



3. Una volta introdotto l'inserto in schiuma, ruotarlo di 90° in senso orario, in modo che l'estremità appuntita si inserisca nello spazio tra le aperture dei due vani. Questo inserto in schiuma serve a tenere aperti gli sportelli dei vani.



4. Con la mano, estrarre delicatamente il porta-piastre fino a quando non preme leggermente contro l'inserto in schiuma bianco inserito nella parte posteriore e non è possibile tirarlo ulteriormente verso l'esterno.



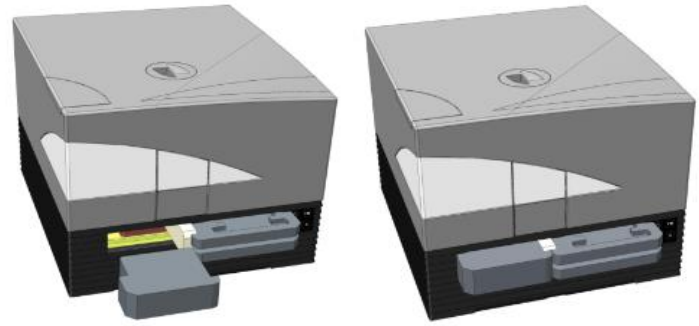
5. Inserire prima l'inserto in schiuma inferiore, quindi quello superiore (vedere l'immagine sottostante).



6. Spostare manualmente il porta-piastre il più a fondo possibile nel vano di destra spingendo gli inserti in schiuma presenti sul porta-piastre.



7. Inserire l'inserto in schiuma nel vano porta-piastre di sinistra (vedere l'immagine sottostante).



8. Chiudere gli sportelli del vano filtro con del nastro adesivo (vedere l'immagine sottostante).



4 Controllo della piastra

Il porta-piastre può spostarsi sia orizzontalmente (nelle direzioni x e y) sia verticalmente (nella direzione z), in modo che per ogni modalità di misurazione, dall'alto o dal basso, sia possibile raggiungere la posizione ottimale, indipendentemente dal tipo di piastra o dal volume di riempimento in uso. La velocità di spostamento è ottimizzata in funzione del tipo di piastra e della modalità di rilevamento.

NOTA : Per informazioni sui requisiti supplementari relativi al funzionamento dello strumento con il modulo impilatore per micropiastre, consultare il capitolo 15 Impilatore per micropiastre Spark-Stack.

CAUTELA : Prima di avviare le misurazioni, accertarsi che la micropiastra sia inserita correttamente. Il pozzetto A1 deve trovarsi in alto a sinistra.

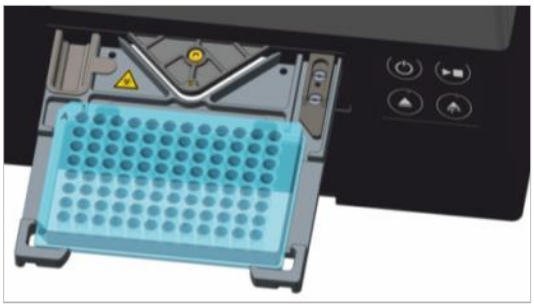


Figura 2: Micropiastra sul porta-piastre con il pozzetto A1 nell'angolo superiore sinistro

CAUTELA : Tecan Austria GmbH ha prestato la massima attenzione nel creare i file di definizione piastra (.pdfx) forniti insieme allo strumento.

Abbiamo adottato tutte le necessarie precauzioni per garantire che le altezze delle piastre e le profondità dei pozzetti corrispondano al tipo di piastra definito. Tali parametri vengono utilizzati per determinare la distanza minima tra la parte superiore della piastra e il soffitto della camera di misurazione. Inoltre, Tecan Austria aggiunge una distanza di sicurezza minima per evitare danni alla camera di misurazione in conseguenza di piccole variazioni a livello di altezza della piastra. Tale distanza non influisce sulle prestazioni dello strumento.

Assicurarsi che il file di definizione piastra selezionato corrisponda alla micropiastra effettivamente in uso, in modo che sia possibile calcolare la corretta distanza di sicurezza ed evitare eventuali danni allo strumento.

CAUTELA: In caso di utilizzo di soluzioni aggressive, non lasciare le micropiastre all'interno dello strumento durante la notte. Acidi, basi o soluzioni detergenti (candeggina) evaporano all'interno del lettore causando corrosione. Ciò potrebbe danneggiare seriamente lo strumento e comprometterne il corretto funzionamento. Tecan non si assume alcuna responsabilità, né potrà essere ritenuta responsabile nel caso in cui il lettore rimanga danneggiato a causa di un uso improprio delle piastre.



CAUTELA : Gli utenti devono inoltre prestare attenzione che nella parte superiore della piastra non siano presenti potenziali fonti di contaminazione fluorescenti o luminescenti, come goccioline, e tenere presente che alcuni sigillanti per piastre lasciano un residuo appiccicoso da rimuovere prima della misurazione.

4.1 Posizione Z

L'altezza dell'obiettivo al di sopra del campione può essere regolata utilizzando la funzione Posizione Z . Poiché la luce di eccitazione viene riflessa dal liquido del campione, la regolazione Z aiuta a ottimizzare il rapporto segnale/rumore. Per ulteriori informazioni sul posizionamento Z, consultare il relativo capitolo nella Guida di riferimento.

4.2 Agitazione

SPARK è in grado di agitare le piastre prima dell'avvio di una misurazione o tra un ciclo cinetico e l'altro. Sono disponibili tre modalità di agitazione: lineare, orbitale e doppio orbitale. L'ampiezza di agitazione può essere selezionata da 1 a 6 mm a passi di 0,5 mm. La frequenza è una funzione dell'ampiezza. La durata dell'agitazione è selezionabile da 3 a 3.600 secondi.

4.3 Posizione di incubazione/raffreddamento

SPARK prevede una posizione di incubazione/raffreddamento predefinita con una distribuzione ottimale della temperatura. Tali posizioni possono essere utilizzate per le fasi di agitazione o attesa nell'ambio di un ciclo di misurazione.

4.4 Lid Lifter

L'opzione Lid Lifter (Dispositivo di sollevamento coperchio) è costituita da un magnete permanente e da un cuscinetto magnetico. Il cuscinetto magnetico può essere montato sui coperchi di tutti i tipi di micropiastre comunemente utilizzati con un'altezza massima del coperchio di 11,5 mm. Il meccanismo magnetico è regolato tramite il software.

Per installare il cuscinetto magnetico, rimuovere il rivestimento di carta dal disco metallico e fissare il cuscinetto al centro del coperchio.



CAUTELA : L'altezza del coperchio non deve essere superiore a 11,5 mm.



CAUTELA : Prima di fissare il cuscinetto magnetico, pulire il coperchio con alcol etilico al 70%.



CAUTELA : Assicurarsi che il cuscinetto magnetico sia montato sul coperchio della piastra se le opzioni **Coperchio rimovibile** o **Humidity Cassette** sono attivate nel metodo.



CAUTELA : Montare il cuscinetto magnetico al centro del coperchio della piastra per garantire prestazioni ottimali.

L'opzione Lid Lifter viene utilizzata per rimuovere temporaneamente il coperchio della micropiastra per eseguire, ad esempio, fasi di iniezione o misurazione nell'ambito della sequenza di lavoro di un esperimento a lungo termine evitando così l'evaporazione del campione.

Il Lid Lifter, abbinato al modulo gas opzionale, può essere utilizzato anche per migliorare lo scambio gassoso tra il mezzo e l'ambiente circostante in caso di studi basati su cellule. Le fasi di ventilazione possono essere facilmente inserite nella sequenza di lavoro e programmate di conseguenza.

L'opzione Lid Lifter può essere utilizzata anche insieme alla Humidity Cassette di Tecan (consultare il capitolo 17 Controllo ambientale).

4.5 Fissaggio dei contenitori per colture cellulari RoboFlask

Per fissare i contenitori per colture cellulari RoboFlask (Corning, Inc.) al porta-piastre è necessario un morsetto di centraggio. Il morsetto deve essere installato dall'utente prima di avviare misurazioni con i contenitori per colture cellulari RoboFlask. Attenendosi alle istruzioni fornite.

- Rimuovere il porta-piastre
- Inserire il morsetto di centraggio nel meccanismo di fissaggio della piastra come indicato nella figura sottostante.
- Serrare la vite utilizzando il cacciavite fornito prestando attenzione a non esercitare pressione sul porta-piastre.

CAUTELA : Non esercitare pressione sul porta-piastre durante il fissaggio del morsetto di centraggio. Un porta-piastre piegato può influenzare negativamente le prestazioni dello strumento e richiedere interventi di riparazione.

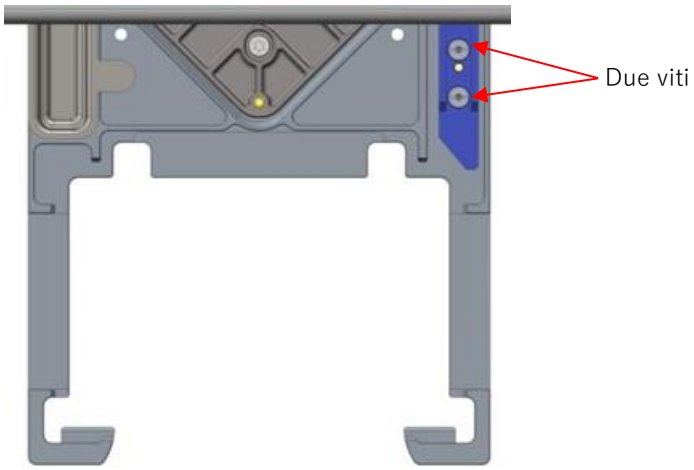


Figura 3: Morsetto di centraggio per contenitori per colture cellulari RoboFlask

CAUTELA : Non utilizzare i contenitori per colture cellulari RoboFlask senza il morsetto di centraggio. Si potrebbe danneggiare lo strumento.

NOTA : Utilizzando un maggior numero di flash e/o un tempo di pausa durante le misurazioni con il RoboFlask, si otterrà un risultato più accurato.

5 Piattaforma SPARK

SPARK è una piattaforma di lettura multimodale. Ogni variante dello strumento può essere equipaggiata con numerosi moduli e funzioni. Nel capitolo successivo viene fornita una panoramica.

5.1 Moduli e funzioni disponibili

SPARK è compatibile con i formati piastra da 1 a 384 pozzetti; moduli avanzati supportano micropiastre fino a 1.536 pozzetti.

Modulo/Funzione	Caratteristiche
Assorbanza	Assorbanza (rapida scansione in assorbanza inclusa) o Assorbanza avanzata (fino a 1.536 pozzetti)
Piastra NanoQuant	Per campioni di acido nucleico a basso volume; applicazioni ottimizzate disponibili per la quantificazione degli acidi nucleici e l'efficienza di etichettatura.
Modulo cuvette	Per misurazioni di assorbanza. Applicazione ottimizzata disponibile.
Luminescenza standard	Funzione di attenuazione (OD1 e OD2). Fino a 384 pozzetti.
Luminescenza avanzata	Funzione di attenuazione (OD1, OD2 e OD3). Discriminazione delle lunghezze d'onda. Scansione in luminescenza inclusa. Fino a 1.536 pozzetti
Tecnologia Alpha	AlphaScreen, AlphaLISA e AlphaPlex. Alpha avanzata (fino a 1.536 pozzetti)
Fluorescenza standard Cima	Sistema con solo filtro, solo monocromatore o Fusion Optics disponibile. Fino a 384 pozzetti.
Fluorescenza standard Fondo	Sistema con solo filtro, solo monocromatore o Fusion Optics disponibile. Fibra VIS o UV-VIS. Fino a 384 pozzetti.
Scansione d'area fluorescenza standard Fondo	Fino a 100x100 punti di dati/pozzetto
Polarizzazione fluorescenza standard	Sistema con solo filtro, solo monocromatore o Fusion Optics disponibile. Fibra >300 nm o >390 nm. Fino a 384 pozzetti.
Fluorescenza avanzata Cima	Sistema con solo filtro, solo monocromatore o Fusion Optics disponibile. Più sensibile dell'opzione standard. Fino a 1.536 pozzetti

Modulo/Funzione	Caratteristiche
Fluorescenza avanzata Fondo	Sistema con solo filtro, solo monocromatore o Fusion Optics disponibile. Dotato di fibra UV-VIS. Più sensibile dell'opzione standard. 1.536 pozzetti opzionali.
Scansione d'area fluorescenza avanzata Fondo	Fino a 100x100 punti di dati/pozzetto
Polarizzazione fluorescenza avanzata	Sistema con solo filtro, solo monocromatore o Fusion Optics disponibile. Dotato di fibra >300 nm. Più sensibile dell'opzione standard. Fino a 1.536 pozzetti
Modulo cellulare: conta e confluenza cellulare	Conta cellulare e percentuale di cellule vive in Tecan Cell Chip (applicazioni ottimizzate). Confluenza cellulare nelle micropiastre.
Cell Imager	Imaging in campo chiaro e imaging in fluorescenza nelle micropiastre.
Spark-Stack	Impilatore per micropiastre incorporato, progettato per consentire di caricare, scaricare e rimpilare le piastre in modo automatico.
Iniettore (uno o due iniettori)	Opzioni a uno o due iniettori con diverse dimensioni di siringhe.
Riscaldatore e agitatore	Entrambe le opzioni iniettore possono essere dotate di modulo riscaldatore/agitatore.
Riscaldamento	Da 3 °C sopra la temperatura ambiente fino a 42 °C.
Raffreddamento (Te-Cool)	Da 18 °C fino a 42 °C.
Controllo gas	Solo CO_2 o CO_2 e O_2.
Controllo dell'umidità	Protezione dall'evaporazione per diversi formati di piastra per studi a lungo termine (con cellule).
Lid Lifter	Interazioni durante studi a lungo termine (scambio gas, iniezione)
Lettore di codice a barre	Legge i codici a barre automaticamente.

Non è possibile installare entrambe le opzioni Fluorescenza standard e Fluorescenza avanzata in un unico strumento.

6 Specifiche dello strumento

NOTA : Tutte le specifiche sono soggette a modifiche senza preavviso.

Nella tabella sottostante vengono elencate le specifiche tecniche dello strumento di base:

Informazioni generali

Parametri	Caratteristiche
Misurazione	Controllata da software
Interfaccia	USB 2.0 o 3.0 (SPARK); 3.0 (SPARK CYTO)
Sistema Fusion Optics	Basato su monocromatore e filtro (scambio filtri esterno)
Micropiastre	Piastre SBS con pozzetti da 1 a 1.536
Controllo della temperatura	Da 18 ° C a 42 ° C (a seconda dei moduli installati)
Agitazione piastra	Lineare, orbitale e doppio orbitale
Fonte di luce	Lampada flash allo xenon ad alta energia
Ottica	Lenti in silice fusa
Rivelatore di fluorescenza	Tubo fotomoltiplicatore corrente di buio bassa
Rivelatore di luminescenza	Tubo fotomoltiplicatore conteggio di buio basso
Rivelatore di assorbanza	Fotodiodo in silicio
Alimentazione	100-120 V e 220-240 V, adattamento automatico
Consumo di energia	Funzionamento: 350 VA, Standby: 25 VA

Dati fisici

Parametri	Caratteristiche		
Dimensioni esterne	Larghezza:	494 mm	(19,5 poll.)
	Altezza:	395 mm	(15,5 poll.)
	Altezza (con Te-Cool):	512 mm	(20,2 poll.)
	Height (with Te-Cool):	512 mm	(20,2 poll.)
	Altezza (con supporto iniettori):	455 mm	(17,9 poll.)
	Profondità:	557 mm	(21,9 poll.)
	Profondità (supporto in posizione esterna):	699 mm	(27,5 poll.)
	Profondità (con Spark-Stack):	786 mm	(30,9 poll.)

Peso

Parametri		
Strumento	40 kg	(88 lb.)
Strumento con Te-Cool	50 kg	(110 lb.)
Strumento con Cell Imager (per CYTO600, la più pesante tra le varie configurazioni possibili)	max. 50 kg	(max. 110 lb.)
Iniettore (2 canali)	4,0 kg	(8,8 lb.)
Riscaldatore/agitatore	2,7 kg	(6 lb.)
Modulo Spark-Stack	**Caratteristiche**	
Impilatore	8,5 kg	(18,7 lb.)
Pila corta (2 caricatori per piastre, inclusi coperchi scuri)	4,5 kg	(9,9 lb.)
Pila lunga (2 caricatori per piastre, inclusi coperchi scuri)	5 kg	(11 lb.)

Dati ambientali

Parametri	Caratteristiche	
Temperatura di esercizio	Da +15 ° C a +35 ° C	Da 59 ° F a 95 ° F
Temperatura di esercizio con raffreddamento attivo	Da +15 ° C a +30 ° C	Da 59 ° F a 86 ° F
Temperatura di trasporto	Da -30 ° C a +60 ° C	Da -22 ° F a +140 ° F
Umidità di esercizio	Dal 20% al 90% (senza condensa)	
Umidità di esercizio con raffreddamento attivo	Dal 20% all'80% (senza condensa)	
Umidità di trasporto	Dal 20% al 95 % (senza condensa)	
Pressione di esercizio	700-1050 hPa	
Pressione di trasporto	500-1100 hPa	
Categoria di sovratensione	II	
Grado d'inquinamento	2	
Uso	Commerciale	
Livello di rumore	< 60 dBA	
Metodo di smaltimento	Rifiuto elettronico (rifiuto infettivo)	

7 Pulizia e manutenzione

7.1 Introduzione

- Per ulteriori informazioni sulla manutenzione della piastra NanoQuant, consultare il capitolo 18.4 Manutenzione della piastra NanoQuant e il relativo capitolo nella Guida di riferimento.
- Per la manutenzione dell'iniettore, consultare il capitolo 16.3 Pulizia e manutenzione dell'iniettore.
- Per ulteriori informazioni sulla manutenzione dell'adattatore Cell Chip, consultare il capitolo 13.3.3 Manutenzione e pulizia dell'adattatore per Cell Chip e il relativo capitolo nella Guida di riferimento.
- Per la manutenzione del modulo di raffreddamento, consultare il capitolo 17.2.7 Manutenzione.
- Per informazioni sulla manutenzione dello Spark-Stack, consultare il capitolo 15.2.7 Pulizia e manutenzione dello Spark-Stack.

Le procedure di pulizia e manutenzione sono importanti per prolungare la durata dello strumento e per ridurre la necessità di interventi di assistenza.

Questa sezione fornisce informazioni su:

- Manutenzione preventiva
- Fuoriuscite di liquidi
- Disinfezione dello strumento
- Procedura di disinfezione
- Certificato di sicurezza
- Smaltimento



CAUTELA : Tenere pulito il porta-piastre. Prestare particolare attenzione al meccanismo a clip che tiene le micropiastre. Un fissaggio insufficiente delle piastre può causare danni allo strumento. Un eccessivo accumulo di sporcizia richiede interventi di assistenza.

7.2 Manutenzione preventiva

Per garantire e mantenere prestazioni ottimali dello strumento e ridurre al minimo l'usura, si raccomanda vivamente di eseguire una manutenzione preventiva annuale (PM).

La procedura di PM comprende (a titolo esemplificativo ma non esaustivo):

- Verifiche del funzionamento e dell'accuratezza
- Pulizia di filtri e ventole
- Sostituzione delle parti di manutenzione
- Allineamento dei componenti meccanici



NOTA: Questa manutenzione deve essere eseguita da un tecnico dell'assistenza Tecan certificato.

7.3 Fuoriuscite di liquidi

1. Asciugare immediatamente eventuali fuoriuscite con materiale assorbente.
2. Smaltire il materiale contaminato in modo appropriato.
3. Pulire le superfici dello strumento con un detergente delicato.
4. Per le fuoriuscite di liquidi a rischio biologico, utilizzare B33 (Orochemie, Germania).
5. Asciugare le aree sottoposte a pulizia.



CAUTELA : Spegnere sempre lo strumento prima di rimuovere qualsiasi tipo di fuoriuscita sullo strumento. Tutte le fuoriuscite devono essere trattate come potenzialmente infettive. Attenersi sempre alle precauzioni di sicurezza applicabili (ovvero indossare guanti privi di polvere, occhiali e indumenti protettivi) per evitare la potenziale contaminazione di malattie infettive.

Inoltre, tutti i rifiuti derivanti dalla procedura di pulizia devono essere trattati come potenzialmente infettivi ed è necessario eseguirne lo smaltimento attenendosi alle istruzioni fornite nel capitolo 7.5 Smaltimento.

7.4 Decontaminazione/disinfezione dello strumento



AVVERTENZA : La procedura di disinfezione deve essere eseguita nel rispetto delle normative nazionali, regionali e locali.



AVVERTENZA : Tutte le parti dello strumento venute a contatto con materiali potenzialmente infettivi o materiali pericolosi devono essere trattate come aree potenzialmente infettive.

Si consiglia di attenersi sempre alle precauzioni di sicurezza applicabili (ovvero indossare guanti privi di polvere, occhiali e indumenti protettivi) per evitare la potenziale contaminazione di malattie infettive durante la procedura di disinfezione.



AVVERTENZA : È fondamentale disinfettare accuratamente lo strumento prima di portarlo fuori dal laboratorio e prima che venga eseguito qualsiasi intervento sullo stesso.



AVVERTENZA : La procedura di disinfezione per l'iniettore descritta in questo capitolo è valida solo per il coperchio della scatola iniettori. Per la pulizia e la manutenzione di siringhe, tubi e pompe, consultare il capitolo 16.3 Pulizia e manutenzione dell'iniettore.



CAUTELA : Assicurarsi che la micropiastra venga rimossa dallo strumento prima di iniziare la preparazione per la spedizione. Se si lascia una micropiastra nello strumento, le soluzioni fluorescenti potrebbero contaminare le parti ottiche e danneggiare lo strumento.

Prima di riconsegnare lo strumento al distributore o al centro di assistenza, tutte le superfici esterne e il porta-piastre devono essere disinfettati e deve essere compilato un certificato di sicurezza da parte del responsabile operativo. In caso di mancata presentazione del certificato di disinfezione, lo strumento potrebbe non venire accettato dal distributore o dal centro di assistenza oppure potrebbe essere trattenuto dalle autorità doganali.

7.4.1 Soluzioni per la procedura di disinfezione

Lo strumento (parte anteriore, coperchio, porta-piastre) deve essere disinfettato con la seguente soluzione:

- B33 (Orochemie, Germania)



CAUTELA : La procedura di disinfezione deve essere eseguita in una stanza ben ventilata, da personale autorizzato e adeguatamente formato che indossi guanti usa e getta e indumenti e occhiali protettivi.



AVVERTENZA : La procedura di disinfezione per l'iniettore è valida solo per il coperchio della scatola iniettori. Per la pulizia e la manutenzione di siringhe, tubi e pompe, consultare il capitolo 16.3 Pulizia e manutenzione dell'iniettore.

7.4.2 Procedura di disinfezione



CAUTELA : Il disinfettante per superfici potrebbe influenzare negativamente le prestazioni dello strumento, qualora venisse applicato o penetrasse accidentalmente al suo interno.



CAUTELA : Prima di avviare la procedura di disinfezione, assicurarsi che la micropiastra sia stata rimossa dallo strumento.

Nel caso in cui il laboratorio non disponga di una procedura di disinfezione specifica , per disinfettare le superfici esterne dello strumento deve essere seguita la procedura seguente.

1. Indossare guanti, occhiali e indumenti protettivi.
2. Preparare un contenitore adatto per tutti gli elementi a perdere utilizzati durante la procedura di disinfezione.
3. Scollegare lo strumento dall'alimentazione di rete.
4. Scollegare lo strumento da qualsiasi componente esterno in uso.
5. Pulire accuratamente tutte le superfici esterne dello strumento con un panno di carta privo di lanugine imbevuto nella soluzione disinfettante.
6. Eseguire la stessa procedura di disinfezione sul porta-piastre.
7. Eseguire la procedura di disinfezione su tutti i componenti esterni utilizzati insieme allo strumento.
8. Compilare il certificato di sicurezza e allegarlo all'esterno della confezione in modo che sia ben visibile.

Di seguito vengono fornite informazioni sul certificato di sicurezza che deve essere compilato prima che lo strumento venga restituito al distributore/centro di assistenza.



CAUTELA : Il porta-piastre deve essere spostato solo manualmente quando lo strumento è scollegato dall'alimentazione di rete.

7.4.3 Certificato di sicurezza

Il certificato di sicurezza deve essere richiesto dal centro assistenza locale Tecan (per le informazioni di contatto, consultare http://www.tecan.com/).

Per garantire la sicurezza e la salute del personale chiediamo gentilmente ai nostri clienti di compilare il **Certificato di sicurezza** in duplice copia e di allegarne una copia nella parte superiore della confezione in cui lo strumento viene riconsegnato (in modo che sia visibile dall'esterno della confezione in cui lo stesso viene restituito!) e l'altra alla documentazione di spedizione prima dell'invio del dispositivo al centro di assistenza per scopi di manutenzione o riparazione.

Lo strumento deve essere decontaminato e disinfettato in loco presso il responsabile operativo prima dell'invio (consultare il capitolo 7.4.2 Procedura di disinfezione).

La procedura di decontaminazione e disinfezione deve essere eseguita in una stanza ben ventilata, da personale autorizzato e adeguatamente formato che indossi guanti usa e getta privi di polvere, e indumenti e occhiali protettivi.

La procedura di decontaminazione e disinfezione deve essere eseguita nel rispetto delle normative nazionali, regionali e locali.

Se non viene fornito il certificato di sicurezza, lo strumento potrebbe non essere accettato dal centro assistenza.

7.5 Smaltimento

Seguire le procedure di laboratorio per lo smaltimento di rifiuti biologicamente pericolosi in conformità alle norme nazionali, regionali e locali.

Questa sezione fornisce istruzioni su come smaltire legalmente i rifiuti accumulatisi utilizzando lo strumento.



CAUTELA : Osservare tutte le norme federali, nazionali e locali relative all'ambiente.



ATTENZIONE : Direttiva 2012/19/UE sui rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche (RAEE)

- Non smaltire apparecchiature elettriche ed elettroniche come rifiuti urbani non differenziati.
- Effettuare una raccolta differenziata dei rifiuti elettrici ed elettronici

7.5.1 Smaltimento del materiale d'imballaggio

Conformemente alla Direttiva 94/62/CE sugli imballaggi e i rifiuti di imballaggio, il produttore è responsabile dello smaltimento del materiale d'imballaggio.

Restituzione del materiale d'imballaggio

Se non si intende conservare il materiale d'imballaggio per un uso futuro, ad es. per scopi legati al trasporto o all'immagazzinaggio, restituire al produttore l'imballaggio del prodotto, i ricambi e i moduli tramite il tecnico dell'assistenza sul campo.

7.5.2 Smaltimento del materiale operativo



AVVERTENZA : Il materiale di rifiuto (micropiastra) dei processi eseguiti con SPARK può essere legato a rischi biologici.

Trattare la micropiastra usata, Cell Chip, altri oggetti a perdere e tutte le sostanze usate in conformità alle direttive inerenti le corrette pratiche di laboratorio.

Informarsi circa i punti di raccolta idonei e i metodi di smaltimento approvati nel proprio paese, stato o regione.

7.5.3 Smaltimento dello strumento

Prima di smaltire lo strumento, contattare il proprio rappresentante dell'assistenza Tecan locale.



CAUTELA : Prima dello smaltimento, disinfettare sempre lo strumento.

Grado d'inquinamento	2 (IEC/EN 61010-1)
Metodo di smaltimento	Rifiuti contaminati



AVVERTENZA : A seconda delle applicazioni, alcune parti dello strumento potrebbero essere state a contatto con materiale a rischio biologico. Assicurarsi di trattare questo materiale in conformità con le norme e gli standard di sicurezza applicabili.

Decontaminare sempre tutte le parti prima di procedere allo smaltimento.

8 Funzionamento di SPARK con software SparkControl

8.1 Campo di applicazione

Il software SparkControl è uno strumento flessibile e semplice da utilizzare attraverso il quale l'utente può controllare il lettore multifunzione Tecan SPARK.

NOTA : A seconda dello strumento connesso e dei moduli installati, alcune funzionalità di SparkControl potrebbero essere disabilitate o non visibili.

8.2 Requisiti di sistema

NOTA : Lo strumento SPARK dotato di modulo Cell Imager viene fornito sempre insieme a un computer stand-alone dedicato, che soddisfa i necessari requisiti relativi a scheda di memoria e scheda video. La lingua del sistema operativo di questo PC è impostata su Inglese.

NOTA : Il software SparkControl non supporta le versioni a 32-bit dei sistemi operativi Windows compatibili.

CAUTELA : Se il PC in uso è provvisto di connessione Internet, l'utente è tenuto ad adottare tutte le precauzioni necessarie per garantire la sicurezza informatica del sistema.

Per evitare che il sistema venga utilizzato/modificato da utenti non autorizzati, Tecan raccomanda di utilizzare il sistema di gestione utenti di Windows. Per l'installazione di software antivirus o di aggiornamenti del sistema operativo legati alla sicurezza, seguire le raccomandazioni del reparto IT locale.

Per utilizzare il software SparkControl è necessario soddisfare i seguenti requisiti relativi all'hardware e al sistema operativo:

	Supportati	**Raccomandati**
PC	PC compatibile con Windows con processore compatibile Pentium da 2 GHz (Dual Core)	2,4 GHz (Quad Core)
	Modulo Cell Imager: > 3 GHz (8 Core) Scheda grafica da 2 GB	
Sistema operativo	Windows 10 (64-bit) Windows 11 (64-bit) Edizioni: Pro, Enterprise **Windows RT NON è supportato.**	
Memoria	8 GB RAM	16 GB RAM
	Modulo Cell Imager: 64 GB RAM	

	Supportati	Raccomandati
Spazio libero su disco rigido	6 GB Per misurazioni di conta cellulare: 40 GB Per misurazioni di confluenza cellulare, sono necessari 500 GB.	10 GB Per misurazioni di conta cellulare: 160 GB Per misurazioni di confluenza cellulare, sono consigliati 1.000 GB.
	Modulo Cell Imager: Unità SSD da 512 GB (sistema) + HDD da 8 TB (archivio)	
Monitor	Scheda grafica Super VGA	**Modulo Cell Imager:** Grafica 4 K
Risoluzione	1280 x 1024	1680 x 1050 1920 x 1080
Intensità colore	256	
Mouse	Mouse Microsoft o dispositivo di puntamento compatibile	
Comunicazione	USB 2.0 USB 3.0	Il cavo specifico per il modulo cellulare va inserito in una porta USB 3.0, possibilmente su un controllore host separato, per garantire una prestazione ottimale.
	Modulo Cell Imager: USB 2.0 (strumento) USB 3.0 (fotocamera)	**Modulo Cell Imager:** USB 3.0 (strumento) USB 3.0 (fotocamera)
Dispositivi	Dispositivo grafico DirectX 9 con WDDM 1.0 o driver superiore	
.NET	Microsoft.NET Framework 4.8 La versione .NET richiesta viene installata automaticamente insieme alle versioni esistenti.	
Microsoft Excel	2007, 2010, 2013, 2016, 2019, Excel 365 Il meccanismo di esportazione scrive i file in formato Office Open XML (.xlsx).	2019, Excel 365

8.3 Installazione del software

NOTA : Per installare il software è necessario disporre dei diritti di amministrazione.

NOTA : Installare il software prima di collegare lo strumento al computer.

NOTA : Prima di effettuare l'aggiornamento del software **SparkControl**, assicurarsi che lo strumento, la fotocamera e tutti gli accessori siano scollegati dal computer.

CAUTELA : Completare sempre tutti i cicli cinetici aperti prima di disinstallare o aggiornare il software. In caso contrario, i dati relativi ai cicli cinetici aperti andranno persi.

Il software SparkControl viene installato utilizzando la seguente procedura:

1. Inserire la chiavetta USB di installazione.
2. Aprire Esplora risorse e selezionare la cartella **Software**/<**article number**>**SparkControl Vx.y** sulla chiavetta di installazione. Fare doppio clic su **SparkControl** <**version**>**_Setup.exe** per avviare la procedura di installazione.
3. Il software verrà installato nel percorso C:¥Program Files¥Tecan. Se lo si desidera, è possibile modificare il percorso di installazione.
4. Selezionare **Installa** per avviare l'installazione del software.

8.3.1 Disinstallazione/Ripristino dell'installazione

Se per qualsiasi ragione si rendesse necessario reinstallare la versione corrente del software SparkControl, procedere come segue:

1. Inserire la chiavetta USB di installazione.
2. Aprire Esplora risorse e selezionare la cartella **Software** sulla chiavetta di installazione.
3. Fare doppio clic su **SparkControl** <**version**>**_setup.exe** per avviare la procedura di installazione.

- Selezionare **Disinstalla** per disinstallare la versione corrente del software, oppure
- Selezionare **Ripristina** per ripristinare l'installazione e i file di programma originali.

8.3.2 IoT Client

SparkControl supporta il monitoraggio remoto di uno strumento registrato e collegato (ad es. stato dello strumento/delle misurazioni) nella Tecan Connect Mobile App tramite l'interfaccia applicativa fornita dal Tecan IoT Client.

IoT Client viene installato automaticamente se viene selezionata l'opzione 'Installa IoT Client' nel corso dell'installazione di SparkControl. Una volta installato, SparkControl invia i seguenti messaggi:

Evento	Messaggio
Instrument state (Stato dello strumento)	Inattivo (pronto), non collegato, ecc.
Measurement state (Stato della misurazione)	Misurazione avviata/ in pausa / ripresa / fermata
Measurement progress (Avanzamento della misurazione)	Etichetta dei dati attuali o messaggio di avanzamento Valore attuale della temperatura e/o della concentrazione di gas Indice del ciclo attuale (solo cicli cinetici) Indice della piastra attuale (solo cicli di misurazione con l'impilatore) Notifica sulla necessità di interazione con l'utente
Warnings/Errors (Avvertimenti/errori)	Messaggio di errore o di avvertimento



CAUTELA: Se il PC operativo dispone di un accesso a Internet, è responsabilità dell'utente prendere le necessarie precauzioni per proteggere il sistema dalle minacce alla sicurezza informatica.

8.4 Avvio di SparkControl

Dal menu Start di Windows, selezionare Tecan>SparkControl Dashboard o Editor di metodo per avviare il programma.

8.4.1 Collegamento degli strumenti



CAUTELA : Non aprire il coperchio dello strumento quando è in funzione.

Ogni strumento collegato è rappresentato da un riquadro corrispondente nel dashboard (consultare il capitolo 8.6 Dashboard e il relativo capitolo nelle istruzioni di SparkControl).

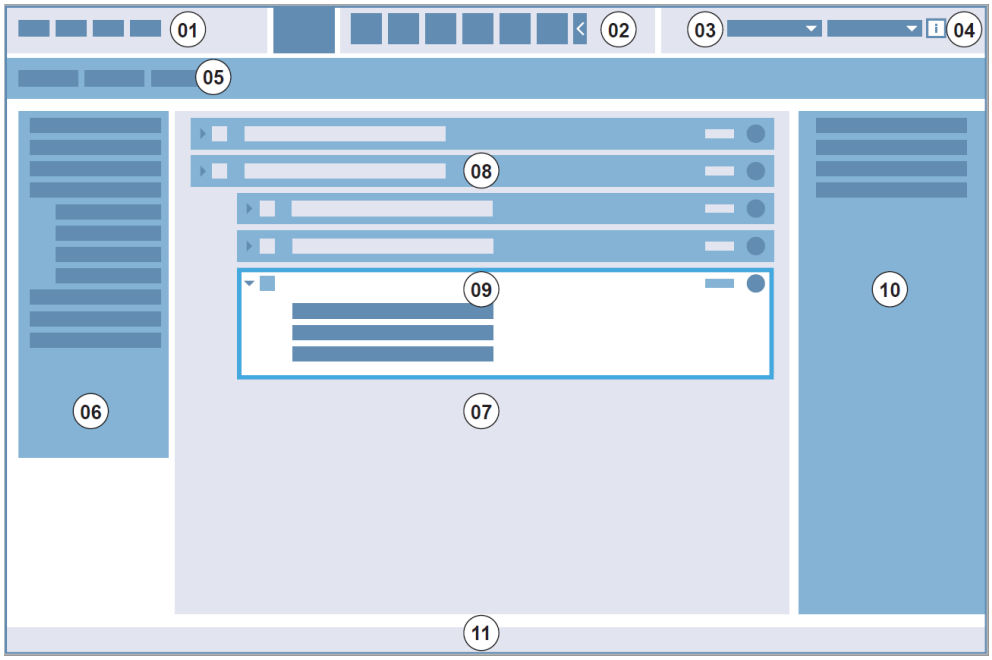


NOTA : SparkControl supporta il collegamento di un massimo di 4 strumenti.

8.5 Editor di metodo

8.5.1 Struttura

L'editor di metodo viene utilizzato per configurare sequenze di lavoro.



01 Barra dei menu; 02 Barra degli strumenti; 03 Elenco a discesa; 04 Pulsante per aprire il riquadro informazioni; 05 Schede per la definizione dei metodi; 06 Barra di controllo; 07 Riquadro della sequenza di lavoro; 08 Striscia compressa; 09 Striscia estesa; 10 Riquadro informazioni; 11 Barra di stato

Barra dei menu	**01**	Contiene un menu a discesa di funzioni dell'editor e del lettore (come File, Modifica, Impostazioni)
Barra degli strumenti	**02**	Contiene icone per funzioni dell'editor comunemente utilizzate (come Nuovo, Salva)
Elenchi a discesa	**03**	Funzioni di selezione e avvio relative alla rispettiva applicazione software o allo strumento collegato (come Seleziona app)
Schede per la definizione dei metodi	**05**	Schede per la definizione dei metodi con gli strumenti di analisi disponibili (ad esempio, metodo di imaging a fluorescenza)
Barra di controllo	**06**	Contiene strisce per la definizione delle sequenze di lavoro
Riquadro Sequenza di lavoro	**07**	Inserire strisce in questo riquadro per definire la sequenza di lavoro. In questo riquadro è inoltre possibile modificare le impostazioni predefinite
Riquadro Informazioni	**10**	Consente di visualizzare ulteriori informazioni sulla sequenza di lavoro
Barra di stato	**11**	Consente di visualizzare informazioni sullo strumento collegato (come nome, temperatura)

Le singole sequenze di lavoro si creano semplicemente trascinando le fasi del processo in una sequenza, a seconda dell'applicazione. Dopodiché la sequenza di lavoro dell'applicazione viene visualizzata nell'apposito riquadro e può essere salvata per un uso futuro.

Si rimanda alle istruzioni di SparkControl per una descrizione dettagliata di:

- Barra di controllo
- Riquadro Sequenza di lavoro
- Barra di menu
- Barra degli strumenti
- Strumento
- Componenti e applicazioni



NOTA : Utilizzare il comando **Adatta alla finestra** situato sul lato sinistro della piastra durante la definizione dell'area della piastra per una piastra a 1.536 pozzetti.



CAUTELA : Insieme al Lid Lifter viene utilizzato un coperchio rimovibile. Prima dell'uso, assicurarsi di aver fissato un cuscinetto magnetico al coperchio della piastra.



NOTA : Quando si utilizza l'adattatore per cuvette Tecan, selezionare il file di definizione piastra corrispondente nella striscia Piastra e definire una misurazione.



CAUTELA : Quando si definiscono valori con punti decimali, utilizzare sempre il simbolo decimale definito nelle impostazioni di area geografica e lingua del sistema operativo del PC.



NOTA : Per abilitare le opzioni **Agitazione continua** e **Attesa continua**, definire una misurazione cinetica con un intervallo **Fisso**.



NOTA : In una striscia Pozzetto sono consentite solo fasi di misurazione della stessa modalità di rilevamento (ad esempio, due fasi di assorbanza con diverse lunghezze d'onda). Eccezione alla regola: misurazioni cinetiche multi-etichettatura eseguite in relazione al pozzetto (ad esempio, loop cinetico/pozzetto/assorbanza/intensità fluorescenza).



NOTA : Le strisce azione **Sposta piastra** e **Intervento utente** non sono consentite in una striscia **Pozzetto**.



NOTA : Le scansioni 3D dell'intensità di fluorescenza non sono consentite in una misurazione cinetica.



NOTA : Le strisce azione **Temperature** (temperatura) e **Gas** non sono consentite nell'ambito di un loop di misurazione cinetico, a meno che non sussista una condizione cinetica.



NOTA : Per ottenere risultati comparabili, gli utenti sono invitati a impostare metodi idonei prima delle misurazioni e di usare il medesimo metodo per tutte le misurazioni cinetiche simili.



NOTA : Per garantire un risultato di ripetibilità ottimale, le condizioni cinetiche, come Agitazione e Iniezione, devono essere inserite immediatamente dopo una striscia Loop cinetico.

NOTA : La funzione **Letture multiple per pozzetto** non è disponibile per misurazioni di pozzetti singoli.

NOTA : La lunghezza d'onda di riferimento sulla striscia **Assorbanza** non è selezionabile insieme a **Letture multiple per pozzetto**.

NOTA : Si raccomanda di eseguire le misurazioni a scansione d'area con un flash.

8.6 Dashboard

8.6.1 Struttura

Il dashboard del software SparkControl consente di:

- Comunicare con gli strumenti collegati
- Avviare misurazioni
- Monitorare lo stato di avanzamento delle misurazioni

Il dashboard è progettato per funzionare con un touchscreen. È possibile interagire con le dita.

Il dashboard contiene i seguenti elementi strutturali:

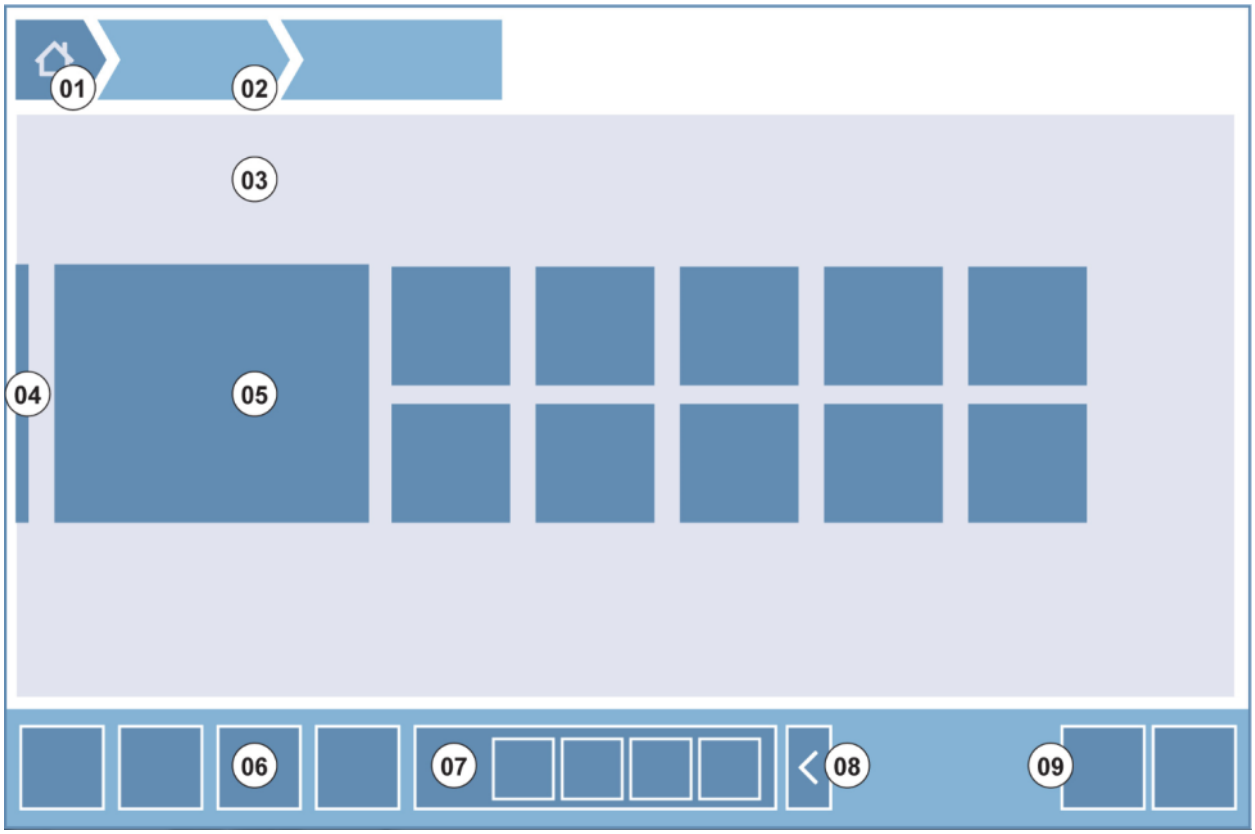


Figura 4: Elementi strutturali del dashboard

01	Pulsante Pagina iniziale
02	Percorso di navigazione
03	Riquadro Sequenza di lavoro
04	Barra di navigazione
05	Riquadri
06	Barra delle azioni con pulsanti di azione
07	Pulsante di azione espandibile
08	Pulsante Espandi (per mostrare più pulsanti di azione)
09	Pulsanti di azione (OK, Annulla, Arresta)

Riquadri

I riquadri avviano le fasi di processo selezionate dall'utente, ad esempio un **riquadro Metodo** avvia il metodo selezionato.
Ad eccezione dei riquadri con più funzionalità, la superficie selezionabile comprende sempre tutta l'area del riquadro.

Per i riquadri con più funzionalità, la superficie selezionabile è sempre più scura rispetto al colore dello sfondo. Esempio: riquadro Avvia (consultare il capitolo 8.7 Avvio di un metodo e il relativo capitolo nelle istruzioni di SparkControl).

Pulsanti di azione

Un gruppo di pulsanti che consentono di:

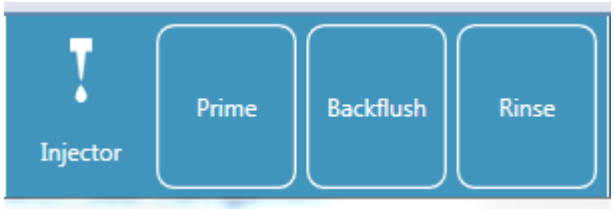
- Modificare le impostazioni di metodi e strumenti
- Confermare/annullare/arrestare fasi della sequenza di lavoro (pulsante OK/Annulla/Arresta)
- Cercare/allineare elementi elencati

Pulsanti di azione espandibili

I pulsanti di azione espandibili vengono utilizzati per un gruppo di pulsanti di azione che fa riferimento allo stesso gruppo di azioni (ad es. Filtro, Iniettore).

Toccare un pulsante di azione espandibile per visualizzare tutti i pulsanti di azione per il gruppo corrispondente.

Esempio: il gruppo di azioni **Iniettore** contiene i pulsanti di azione secondari **Prime, Backflush** e **Risciacquo**.



Pulsanti Espandi

I pulsanti Espandi vengono utilizzati per espandere/comprimere gruppi di elementi.

Barra delle azioni

La barra delle azioni è l'area del dashboard con pulsanti di azione.

Barra di navigazione

La barra di navigazione espandibile sul lato sinistro del dashboard consente di passare ad altri componenti SparkControl (ad es. all'editor di metodo).

Percorsi/cronologia di navigazione

I percorsi di navigazione fungono da guida all'interno dei diversi livelli dell'applicazione e vengono visualizzati nella parte superiore della schermata. Tengono traccia della cronologia di navigazione delle finestre precedenti e includono un pulsante Pagina iniziale. Selezionare il pulsante Pagina iniziale per tornare alla finestra Dashboard.

Esempio:



È stato selezionato un metodo chiamato ELISA, quindi è stata aperta la finestra Controllo temperatura per modificare/confermare la temperatura prima di avviare la misurazione.

8.6.2 Il dashboard

La finestra Dashboard contiene i seguenti riquadri:

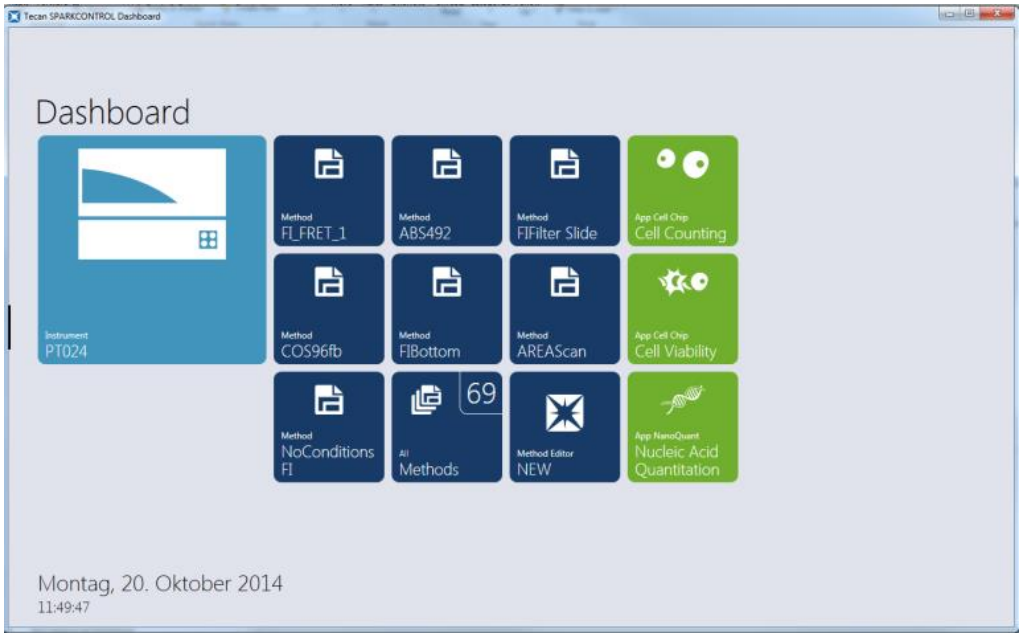


Figura 5: Riquadri Strumento, riquadri Metodo e riquadri App nella finestra Dashboard

Strumento	I **riquadri Strumento** di colore azzurro rappresentano gli strumenti collegati. Selezionare un riquadro Strumento per accedere alla finestra Controllo strumento.
Metodo	I **riquadri Metodo** di colore blu scuro rappresentano i metodi validi per lo strumento collegato. Selezionare un riquadro Metodo per avviare il metodo. Il numero massimo di riquadri Metodo è limitato a otto. Se sono disponibili più di otto metodi, utilizzare il riquadro **Tutti i metodi** per aprire l'elenco di tutti i metodi. I riquadri dei gruppi di metodi visualizzati vengono raggruppati in modo dinamico secondo le seguenti regole: • Ogni metodo nuovo o modificato viene automaticamente visualizzato nel dashboard e in cima al gruppo. • Ogni metodo eseguito viene visualizzato automaticamente nel dashboard e in cima al gruppo. • Tutti gli altri riquadri dei metodi vengono spostati di conseguenza. In caso di più di otto metodi disponibili, il metodo del gruppo che in precedenza era ultimo viene rimosso dal dashboard. Selezionare **NUOVO** per passare direttamente all'editor di metodo per definire un nuovo metodo.
App	I riquadri App di colore verde chiaro rappresentano le applicazioni fornite da Tecan. Selezionare un riquadro App per avviare l'applicazione corrispondente.
Open Workspaces (spazi di lavoro aperti)	**I riquadri Open Workspace** di colore verde oliva rappresentano misurazioni cinetiche incomplete a causa di un ciclo cinetico ancora in esecuzione. Selezionare un riquadro Open Workspace per proseguire con la misurazione cinetica. Il numero massimo di riquadri Open Workspace è limitato a otto. Se sono disponibili più di otto metodi, utilizzare il riquadro **All open workspaces** (tutti gli spazi di lavoro aperti) per aprire l'elenco di tutti i metodi.

NOTA : Per eliminare un riquadro Open Workspace e interrompere così un ciclo cinetico aperto prima della sua completa esecuzione, selezionare il riquadro **All open workspaces e** contrassegnare il/i workspace da eliminare.

Per passare a **Editor di metodo**, **Impostazioni** o **Screencast**, utilizzare la barra di navigazione espandibile sul lato sinistro della finestra di avvio Dashboard. Selezionare **Arresta il sistema** per chiudere l'applicazione SparkControl.

NOTA : La disponibilità dei pulsanti di azione dipende dalla configurazione dello strumento.

NOTA : SparkControl supporta il collegamento di un massimo di 4 strumenti. Tuttavia, non è possibile lavorare in parallelo, ma utilizzare un solo strumento alla volta.

NOTA : I metodi possono essere selezionati dalla finestra di avvio **Dashboard** o dall'elenco di tutti i metodi tramite il riquadro **Tutti i metodi**.

NOTA : La modifica delle impostazioni della temperatura o del gas prima della misurazione non andrà a sovrascrivere le impostazioni della temperatura e del gas definite in un metodo.

Avvio ciclo cinetico aperto

NOTA : Eseguire le misurazioni cinetiche con lunghi tempi d'intervallo, come i cicli cinetici aperti. Ottimizzare l'uso dello strumento e, nel frattempo, effettuare delle misurazioni a breve termine.

NOTA : Solo le misurazioni cinetiche con **Number of cycles** (**numero di cicli**) **corrispondente al tipo loop** possono essere eseguite come cicli cinetici aperti.

NOTA : Solo le misurazioni cinetiche **plate-wise** (**per piastra**) possono essere eseguite come misurazioni cinetiche aperte. Eccezione alla regola: misurazioni cinetiche multi-etichettatura eseguite in relazione al pozzetto (ad esempio, loop cinetico/pozzetto /assorbanza/intensità fluorescenza).

NOTA : Le misurazioni cinetiche con impostazioni relative a gas e/o temperatura attivate in base a tempi prestabiliti o valori di riferimento non possono essere eseguite come cicli cinetici aperti.

NOTA : Un ciclo cinetico aperto può essere avviato esclusivamente attraverso il Dashboard.

NOTA : Selezionare l'**Open Workspace** nel Dashboard per proseguire un ciclo cinetico aperto. Un 'open workspace' deve essere processato con lo stesso strumento usato per la prima misurazione cinetica aperta, in caso contrario non sarà visualizzato nel Dashboard.

NOTA : Modificare il metodo usato per un ciclo cinetico aperto non produrrà alcun effetto sul ciclo cinetico aperto una volta che questo è stato avviato. Il metodo originario viene salvato insieme all'open workspace e può essere usato per tutti i successivi cicli cinetici aperti.

CAUTELA : Interrompere un ciclo cinetico aperto mediante il pulsante **Stop** fermerà non solo l'esecuzione della misurazione corrente, ma anche dell'intero ciclo cinetico aperto. Una volta interrotta l'esecuzione del metodo, non sarà più possibile procedere con l'esecuzione del ciclo cinetico aperto.

CAUTELA : Gli spazi di lavoro cinetici ancora aperti perdono la propria validità dopo un'ispezione periodica e devono essere eliminati manualmente dall'utente.

CAUTELA : Cambiando il percorso dello spazio di lavoro (workspace) si disattiva l'ulteriore esecuzione degli spazi di lavoro aperti, fin quando non verrà ripristinato il percorso originale dello spazio di lavoro.

CAUTELA : Non eliminare la cartella di uno spazio di lavoro aperto se il corrispondente spazio di lavoro aperto è ancora attivo. La cartella dello spazio di lavoro include informazioni necessarie per l'ulteriore esecuzione del metodo.

CAUTELA : Non eliminare la cartella di uno spazio di lavoro aperto se il corrispondente spazio di lavoro aperto è ancora attivo. La cartella dello spazio di lavoro include informazioni necessarie per l'ulteriore esecuzione del metodo.

8.7 Avvio di un metodo



NOTA : Quando si seleziona il pulsante **Pausa**, il ciclo di misurazione corrente non viene messo in pausa immediatamente. La misurazione sarà messa in pausa solo dopo il completamento del ciclo cinetico corrente. Si prega di notare che il tempo di intervallo è parte integrante del ciclo, pertanto una misurazione cinetica con tempo di intervallo sarà messa in pausa solo al termine del tempo di intervallo.

8.7.1 Editor di metodo

Un metodo può essere avviato direttamente dall'editor di metodo facendo clic sul pulsante **Start**. Una volta avviato un metodo, il software passerà alla vista Dashboard.

8.7.2 Dashboard

Un metodo può essere avviato direttamente dal dashboard selezionando il riquadro **Metodo** corrispondente. Consultare il relativo capitolo nelle istruzioni di SparkControl.

8.7.3 Avvia da strumento

Un metodo può essere avviato direttamente premendo il pulsante di **avvio integrato** nello strumento.

Definire un metodo di avvio mediante pulsante integrato nello strumento attenendosi alla procedura riportata di seguito:

- Definire un metodo e salvarlo
- Selezionare **Avvia da strumento** tramite il menu File dell'editor di metodo

Oppure

- Aprire un metodo
- Selezionare **Avvia da strumento** tramite il menu File dell'editor di metodo

Per visualizzare lo stato di avanzamento di una misurazione avviata tramite il pulsante di avvio integrato nello strumento, aprire il dashboard e selezionare il riquadro Strumento dello strumento in uso.

8.8 Impostazioni SparkControl

8.8.1 Struttura

Il componente **Impostazioni** è progettato per consentire all'utente di personalizzare le impostazioni predefinite del sistema. Tali impostazioni possono essere modificate per:

- Software: specificare il tipo di piastra predefinita e i valori predefiniti relativi alla correzione della lunghezza del percorso
- Strumento: inserire l'altezza sopra il livello del mare per gli strumenti dotati di modulo del gas



CAUTELA : Prima di utilizzare il modulo del gas per la prima volta, inserire l'altezza sopra il livello del mare.

- Gestione dati: definire le impostazioni di output dei risultati misurati in Excel



NOTA : Le destinazioni **New worksheet (Nuovo foglio di lavoro) ed Existing workbook (Cartella di lavoro esistente)** sono combinabili solo con le impostazioni risultati **Open on completion with Excel (Aprire con Excel al completamento)**.



NOTA : Quando si esegue un ciclo di misurazione con l'impilatore Spark-Stack integrato, le impostazioni relative alla destinazione vengono ignorate. Di conseguenza, ogni ciclo di misurazione con impilatore genererà una nuova cartella di lavoro con singole schede di lavoro, ognuna delle quali conterrà i dati raccolti durante la misurazione delle piastre corrispondenti.



NOTA : Per le misurazioni cinetiche, si raccomanda di selezionare **Elenco** come modalità di esportazione per facilitare l'analisi dei dati in Excel.

- Forma piastra: creare file di definizione piastra per le piastre non presenti in elenco o per modificare un file di definizione piastra esistente



NOTA : Misurare con un calibro o meglio utilizzare i valori dei disegni di progettazione della piastra forniti dal produttore della piastra.



CAUTELA : Durante la misurazione manuale dell'altezza della piastra, tenere presente che non saranno comprese eventuali tolleranze di piastra imputabili al processo di produzione della piastra.



NOTA : Prestare attenzione alle impostazioni dei valori µm e µl.

- Immagini



NOTA : Se non è possibile aprire le immagini perché lo User Account Control (UAC) (Controllo Account Utente) del sistema operativo è disabilitato, abilitarlo o scegliere un altro programma preimpostato adatto al formato file dell'immagine selezionata.

- Elenco



CAUTELA : Non cambiare il nome delle sottocartelle degli spazi di lavoro. In caso di modifica del nome, in particolare della sottocartella **Immagini**, la compatibilità tra il rispettivo file dello spazio di lavoro e ImageAnalyzer risulterà compromessa a causa della mancata allocazione delle immagini.



NOTA : Durante la definizione di un percorso definito dall'utente, assicurarsi sempre che l'account NETWORK SERVICE disponga del controllo totale o almeno di autorizzazioni speciali sulla cartella selezionata.

Il componente **Impostazioni** è ottimizzato per l'uso con touchscreen mediante riquadri di programma, schede e pulsanti (consultare il capitolo 8.6 Dashboard e il relativo capitolo nelle istruzioni di SparkControl).

8.9 Risultati della misurazione

Il meccanismo di esportazione scrive i file in formato Office Open XML (.xlsx). I risultati vengono salvati automaticamente e possono essere trovati nel percorso predefinito o nel percorso definito dall'utente.

Percorso predefinito:
SparkControl versione < 4.0: C:¥Users¥Public¥Documents¥Tecan¥SparkControl¥Workspaces
SparkControl versione ≥ 4.0: C:¥Users¥Public¥Documents¥Tecan¥SparkControlStore¥Workspaces

A seconda delle impostazioni di presentazione Risultato (consultare il capitolo Gestione dei dati nelle istruzioni di SparkControl), i risultati possono essere aperti automaticamente dopo l'esecuzione della misurazione in Excel.



NOTA : Quando l'editor di metodo o il dashboard non sono disponibili nel momento in cui viene eseguita l'esportazione dei dati (ad esempio quando il software è stato chiuso) e il metodo viene avviato tramite il pulsante di **Avvio** sullo strumento, l'opzione **Cartella di lavoro esistente verrà ignorata e trattata come l'opzione Nuova cartella di lavoro.**



NOTA : Quando si esegue un ciclo di misurazione con l'impilatore Spark-Stack integrato, le impostazioni relative alla destinazione vengono ignorate. Di conseguenza, ogni ciclo di misurazione con impilatore genererà una nuova cartella di lavoro con singole schede di lavoro, ognuna delle quali conterrà i dati raccolti durante la misurazione delle piastre corrispondenti.



NOTA : Durante la definizione di un percorso definito dall'utente, assicurarsi sempre che l'account NETWORK SERVICE disponga del controllo totale o almeno di autorizzazioni speciali sulla cartella selezionata.

9 Luminescenza

NOTA : Il termine **Luminescenza** viene spesso utilizzato per tutte le emissioni di tipo non termico, come fluorescenza, fosforescenza, bio e chemiluminescenza e così via.

Tecan, tuttavia, impiega il termine **luminescenza** solo per i tipi di emissioni che si verificano senza eccitazione.

9.1 Tecniche di misurazione

Con lo strumento SPARK sono disponibili le seguenti tecniche di misurazione:

- Luminescenza di tipo "glow"
- Luminescenza di tipo "flash"
- Luminescenza multicolore
- Scansione in luminescenza

Il modulo standard per luminescenza consente la misurazione integrale di un segnale di luminescenza, senza distinzione tra lunghezze d'onda di emissione. Il modulo standard per luminescenza può essere utilizzato con tutti i formati di micropiastra fino a 384 pozzetti.

Il modulo avanzato per luminescenza consente di eseguire tutte le applicazioni multicolore disponibili, nonché scansioni in luminescenza rapide e ad alta sensibilità. Inoltre, è in grado di misurare segnali di luminescenza senza discriminazione delle lunghezze d'onda e di attenuare segnali a elevata intensità come il modulo standard per luminescenza. Il modulo avanzato per luminescenza può essere utilizzato con tutti i formati di micropiastra supportati dallo strumento.

Il software fornisce tre strisce separate per definire i parametri di misurazione:

- Luminescenza
- Luminescenza multicolore
- Scansione in luminescenza

La disponibilità delle strisce dipende dalla configurazione dello strumento collegato.

Per ulteriori informazioni, consultare la Guida di riferimento.

CAUTELA : Accendere lo strumento almeno 15 minuti prima di avviare una misurazione della luminescenza per garantire condizioni stabili per l'operazione.

NOTA : I segnali di luminescenza misurati con i filtri di attenuazione OD1, OD2 e OD3 vengono automaticamente corretti, rispettivamente, con i fattori 10, 100 e 1000.

NOTA : Quando si usano filtri passa-banda, viene automaticamente visualizzata la lunghezza d'onda centrale con la larghezza di banda risultante dalle impostazioni di filtro corrispondenti.

NOTA : La scansione in luminescenza viene eseguita a lunghezze d'onda centrali discrete risultanti dalla combinazione dei filtri in luminescenza. L'intervallo delle lunghezze d'onda viene definito dalla prima e dall'ultima lunghezza d'onda centrale che rappresentano anche il punto iniziale e il punto finale della scansione. Tutti i restanti punti di misurazione vengono automaticamente derivati dalle impostazioni dell'intervallo.

NOTA : La larghezza di banda e l'intervallo tra le misurazioni mediante scansione in luminescenza sono fissi e non possono essere modificati dall'utente.

NOTA : Se una misurazione della luminescenza fornisce un risultato **OVER** in uno o più pozzetti poiché il segnale misurato era troppo alto, il rivelatore di luminescenza potrebbe richiedere un certo periodo di tempo per tornare al livello di conteggio di equilibrio iniziale.

9.2 Specifiche di luminescenza

NOTA : Tutte le specifiche sono soggette a modifiche senza preavviso.

9.2.1 Specifiche generali

Parametri	Modulo standard per luminescenza	Modulo avanzato per luminescenza
Intervallo di lunghezza d'onda	370-700 nm	370-700 nm
Intervallo di lunghezza d'onda per scansione in luminescenza	N/A	390-660 nm
Discriminazione delle lunghezze d'onda e luminescenza multicolore	N/A	Tramite set di filtri
Tempo d'integrazione/pozzetto	10 - 60.000 ms	10 - 60.000 ms
Attenuazione	1 OD, 2 OD	1 OD, 2 OD, 3 OD
Intervallo dinamico	10^7-10^9	10^7-10^{10}

9.2.2 Specifiche di prestazione

Limite di rilevamento luminescenza di tipo "glow" (modulo standard e avanzato)		
Tipo di piastra/ Volume di riempimento	**Parametro**	**Criteri**
Piastra a 96 pozzetti, bianca, 200 µl	Tempo d'integrazione/pozzetto: 1.000 ms	ATP: < 50 pM (< 10 fmol/pozzetto)
Piastra a 384 pozzetti, bianca, 100 µl	Tempo d'integrazione/pozzetto: 1.000 ms	ATP: < 10 pM (< 1 fmol/pozzetto)
Piastra a 1.536 pozzetti, bianca, 10 µl	Tempo d'integrazione/pozzetto: 1.000 ms	ATP: < 1 nM (< 10 fmol/pozzetto)
Limite di rilevamento luminescenza di tipo "flash" (modulo standard e avanzato)		
Tipo di piastra/ Volume di riempimento	**Parametro**	**Criteri**
Piastra a 96 pozzetti, bianca, 200 µl	Tempo d'integrazione/pozzetto: 10.000 ms	ATP: < 0,4 pM (< 80 amol/pozzetto)
Piastra a 384 pozzetti, bianca, 100 µl	Tempo d'integrazione/pozzetto: 10.000 ms	ATP: < 0,8 pM (< 80 amol/pozzetto)

9.3 Controllo qualità del modulo per luminescenza

9.3.1 Test di controllo qualità periodici

A seconda dell'utilizzo e dell'applicazione, si consiglia una valutazione periodica dello strumento presso un centro Tecan.

I test descritti nei successivi capitoli non sostituiscono una valutazione completa da parte del produttore o dei rivenditori autorizzati. Tuttavia, possono essere eseguiti periodicamente dall'utente per verificare aspetti significativi delle prestazioni dello strumento.

I risultati sono fortemente influenzati da errori di pipettatura e dall'impostazione dei parametri nello strumento. Per tale ragione, è fondamentale attenersi scrupolosamente alle istruzioni. L'utente deve determinare gli intervalli appropriati per questi test in base alla frequenza di utilizzo dello strumento.



CAUTELA : Prima di avviare le misurazioni, accertarsi che la micropiastra sia inserita correttamente. Il pozzetto A1 deve trovarsi in alto a sinistra.



AVVERTENZA : Le seguenti istruzioni descrivono la procedura di controllo qualità per verificare le specifiche dello strumento. Se i risultati di questi test di controllo non sono conformi alle specifiche dello strumento fornite nel presente manuale, contattare il centro di assistenza locale per ulteriori informazioni.

9.3.2 Limite di rilevamento ATP – Piastre a 384 pozzetti

Il limite di rilevamento è la quantità minima di una sostanza che può essere distinta dal bianco nell'ambito di un limite di confidenza stabilito.

Prima della pipettatura della piastra, preparare lo strumento per la misurazione e avviare la misurazione immediatamente dopo la pipettatura.



CAUTELA : Accendere lo strumento almeno 15 minuti prima di avviare una misurazione della luminescenza per garantire condizioni stabili per l'operazione.

Materiale

- ATP Kit SL (BioThema AB, articolo n. 144-041)
- Piastra a 384 pozzetti Greiner, fondo piatto, bianca
- Pipette + puntali

Procedura

Preparare i reagenti conformemente alle istruzioni del produttore. Regolare ATP standard a 10^{-7} M.

Pipettare 100 µl di bianco nei pozzetti A4 - D10.

Pipettare 20 µl di ATP standard 10^{-7} M nei pozzetti A2 - D2, aggiungere 80 µl di reagente ATP e miscelare **(utilizzare un puntale nuovo per ogni pozzetto); il reagente ATP NON deve essere contaminato con ATP standard.**

Layout della piastra

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	...	24
A		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
B		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
C		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
D		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
E													
...													
P													

ATP: 100 µl, 2*10-8 M ATP (concentrazione finale nel pozzetto)
B: 100 µl di bianco

Parametri di misurazione

Modalità di misurazione:	Luminescenza
Tempo d'integrazione:	1000 ms
File definizione piastra:	GRE384fw

Valutazione

Calcolare il limite di rilevamento (DL) come segue:

$$DL(fmol\ /\ well) = \frac{2 \cdot 10^{-8} * 3 * SD_B}{mean_{ATP} - mean_B} * 0.0001 * \frac{1}{1e^{-15}}$$

$2*10^{-8}$	Concentrazione di ATP standard [M]
SD_B	Deviazione standard del bianco (B: A4 – D10)
$mean_{ATP}$	Media di pozzetti riempiti con ATP standard
$mean_B$	Media di pozzetti di bianco (B: A4 – D10)
0,0001	Conversione in mol/pozzetto
$1/1e^{-15}$	Conversione in fmol/pozzetto

9.3.3 Limite di rilevamento ATP – Piastre a 1.536 pozzetti

Il limite di rilevamento è la quantità minima di una sostanza che può essere distinta dal bianco nell'ambito di un limite di confidenza stabilito.

Prima della pipettatura della piastra, preparare lo strumento per la misurazione e avviare la misurazione immediatamente dopo la pipettatura.



CAUTELA : Accendere lo strumento almeno 15 minuti prima di avviare una misurazione della luminescenza per garantire condizioni stabili per l'operazione.

Materiale:

- ATP Kit SL (BioThema AB, articolo n. 144-041)
- Piastra a 1536 pozzetti Greiner, fondo piatto, bianca
- Pipette + puntali

Procedura

Preparare i reagenti conformemente alle istruzioni del produttore. Regolare ATP standard a 10^{-7} M.

Pipettare 10 µl di bianco nei pozzetti A4 - D10.

Pipettare 2 µl di ATP standard 10^{-7} M nei pozzetti A2 - D2, aggiungere 8 µl di reagente ATP e miscelare
(utilizzare un puntale nuovo per ogni pozzetto); il reagente ATP NON deve essere contaminato con ATP standard.

Layout della piastra

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	...	24
A		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
B		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
C		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
D		ATP		B	B	B	B	B	B	B			
E													
...													
P													

ATP: 10 µl, 2*10-8 M ATP (concentrazione finale nel pozzetto)
B: 10 µl di bianco

Parametri di misurazione

Modalità di misurazione:	Luminescenza
Tempo d'integrazione:	1000 ms
File definizione piastra:	GRE1536fw

Valutazione

Calcolare il limite di rilevamento (DL) come segue:

$$DL(\text{fmol / well}) = \frac{2 \cdot 10^{-8} * 3 * SD_B}{mean_{ATP} - mean_B} * 0.00001 * \frac{1}{1e^{-15}}$$

$2*10^{-8}$	Concentrazione di ATP standard [M]
SD_B	Deviazione standard del bianco (B: A4 – D10)
$mean_{ATP}$	Media di pozzetti riempiti con ATP standard
$mean_B$	Media di pozzetti di bianco (B: A4 – D10)
0,0001	Conversione in mol/pozzetto
$1/1e^{-15}$	Conversione in fmol/pozzetto

10 Tecnologia Alpha

10.1 Principi di base

I saggi omogenei di prossimità a luminescenza amplificata (AlphaScreen e AlphaLISA) sono saggi non radioattivi omogenei e sensibili basati su microsfere, perfettamente indicati per lo studio delle interazioni biochimiche. L'interazione tra una microsfera donatrice e una microsfera accettrice genera un'emissione luminosa: all'illuminazione con una fonte di luce ad alta energia, le molecole fotosensibili contenute nelle microsfere donatrici producono un elevato livello di ossiradicali. Questi ossiradicali raggiungono le microsfere accettrici e attivano una serie di reazioni che portano alla generazione di un forte segnale chemiluminescente.

Utilizzando più microsfere accettrici, che emettono a diverse lunghezze d'onda, è possibile rivelare diversi analiti in un pozzetto (AlphaPlex).

10.2 Modulo Alpha

Il modulo Alpha viene utilizzato per il rilevamento di saggi basati sulla tecnologia Alpha (AlphaScreen, AlphaLISA e AlphaPlex). Il modulo Alpha è costituito principalmente da un modulo avanzato per luminescenza e laser abbinato a un sensore di temperatura a infrarossi senza contatto.

10.2.1 Filtro

Sono disponibili filtri per applicazioni basate su Alpha. Ogni filtro passa-banda viene generato mediante la combinazione di un filtro a passo lungo e un filtro a passo corto integrati nelle ruote portafiltri del modulo avanzato per luminescenza. Nella tabella sottostante sono riportate le caratteristiche di lunghezza d'onda del filtro passa-banda predefinito:

Tecnologia Alpha	**Filtro**	**Lunghezza d'onda centrale/ Larghezza di banda**
AlphaScreen	Filtro a passo lungo: 520 nm, filtro a passo corto: 620 nm	570 nm/100 nm
AlphaLISA	Filtro a passo lungo: 610 nm, filtro a passo corto: 635 nm	622,5 nm/25 nm
AlphaPlex	Filtro a passo lungo: 610 nm, filtro a passo corto: 635 nm, filtro a passo lungo: 535 nm, filtro a passo corto: 560 nm	622,5 nm/25 nm 547,5 nm/25 nm

10.2.2 Ottica

Come fonte di luce di eccitazione per analisi basate su Alpha, viene utilizzato un laser a elevata potenza [1]. La fibra a luminescenza [2] guida la luce dal campione fino al rivelatore attraversando le ruote portafiltri [4]. Sulle ruote portafiltri sono installati filtri a passo lungo e corto. Combinazioni appropriate di filtri determinano filtri passa-banda dedicati. La ruota portadiaframmi [3] adatta il diametro del fascio di luce alle dimensioni del pozzetto utilizzato.

Il modulo Alpha può essere utilizzato con tutti i formati di micropiastra supportati dallo strumento.

Bassi livelli di luce vengono ottimizzati dal rivelatore a conteggio di singolo fotone [5].

Il modulo Alpha è abbinato a un sensore di temperatura a infrarossi [6] per compensare le differenze di segnale causate dalla temperatura in ogni pozzetto della micropiastra.

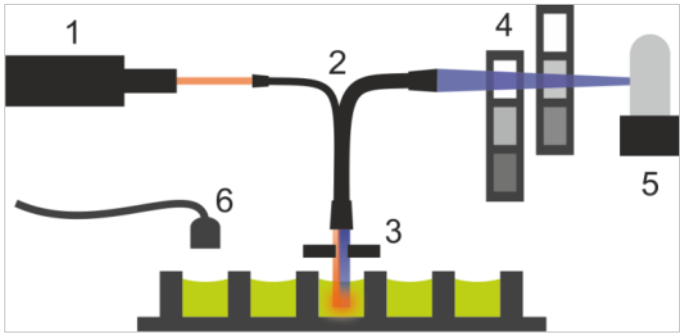
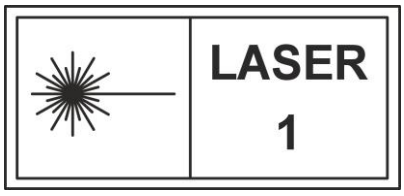


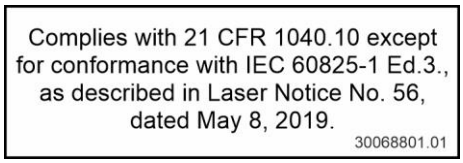
Figura 6: Sistema ottico nel modulo Alpha:
[1] Modulo laser; [2] Fibra a luminescenza; [3] Ruota portadiaframmi; [4] Ruote portafiltri; [5] Unità di rivelazione; [6] Sensore di temperatura a infrarossi (IR)

10.2.3 Laser

Il modulo laser utilizza un laser a elevata potenza (680 nm/750 mW) come fonte di luce di eccitazione. Uno strumento SPARK dotato di modulo Alpha è un prodotto LASER di CLASSE 1. Lo strumento è conforme alla normativa sulle radiazioni laser della FDA 21 CFR 1040.10, tranne che per la conformità a IEC 60825-1 Ed.3, come descritto nel documento “Laser Notice No. 56”, datato 8 maggio 2019.

Nella parte posteriore dello strumento sono presenti le seguenti etichette:







AVVERTENZA : Radiazione laser di Classe IV all'interno dello strumento - Tenere il coperchio dello strumento chiuso durante la misurazione.

10.2.4 Rilevamento



CAUTELA : Accendere lo strumento almeno 15 minuti prima di avviare una misurazione per garantire condizioni stabili per l'operazione.

Il sistema di rilevamento del modulo per luminescenza e del modulo Alpha utilizza la tecnica di misurazione a conteggio di singolo fotone. Tale tecnica è basata su un rivelatore di luminescenza dedicato con circuiteria di misurazione appropriata. Questa tecnica è altamente resistente al rumore ed è pertanto il metodo preferito per eseguire misurazioni a livelli di luce estremamente bassi.



CAUTELA : Utilizzare piastre di colore bianco o grigio chiaro per misurazioni basate sulla tecnologia Alpha. Non utilizzare mai piastre di colore nero e non misurare pozzetti vuoti per evitare danni causati dalla radiazione laser.

10.2.5 Correzione della temperatura

Per compensare la natura sensibile alla temperatura delle analisi basate sulla tecnologia Alpha, il modulo Alpha offre un sistema di correzione della temperatura.

Un sensore di temperatura senza contatto misura la temperatura all'interno di ciascun pozzetto e i tassi di conteggio misurati vengono automaticamente normalizzati a una temperatura di 22,5 ° C. Il rilevamento della temperatura e del segnale vengono eseguiti in parallelo. A causa della posizione del sensore di temperatura, la direzione della lettura è da destra verso sinistra (da A12 a A1, da B12 a B1 in caso di una piastra a 96 pozzetti) se si utilizza la funzione di correzione della temperatura.



NOTA : Per garantire prestazioni ottimali delle analisi basate sulla tecnologia Alpha, SPARK deve essere utilizzato in un ambiente con regolazione della temperatura (±1 ° C nell'intervallo 20 – 25 ° C).

10.3 Definizione delle misurazioni Alpha

Il software SparkControl prevede una striscia per misurare:

- AlphaScreen
- AlphaLISA
- AlphaPlex
- Misurazioni definite dall'utente

La striscia Tecnologia Alpha è disponibile solo per gli strumenti con modulo Alpha che comprende modulo avanzato per luminescenza e modulo laser. Selezionare la striscia per definire i metodi basati sulla tecnologia Alpha.

Per ulteriori informazioni, consultare la Guida di riferimento et le istruzioni di SparkControl.

10.4 Ottimizzazione delle misurazioni basate sulla tecnologia Alpha

10.4.1 Tempo d'integrazione

A causa di statistiche fotoniche irregolari durante l'integrazione del segnale, tempi di integrazione più lunghi per pozzetto determinano valori più accurati. Il rumore fotonico (rumore shot) non può essere ridotto tecnicamente, ma ottimizzato in esperimenti pre-test applicando diversi tempi di integrazione.

NOTA : Il relativo rapporto segnale-rumore (shot) può essere migliorato con tempi di integrazione per pozzetto più lunghi che determinano maggiori tempi di misurazione dell'intera piastra.

10.4.2 Tempo di eccitazione

Il tempo di eccitazione definisce la durata dell'illuminazione del campione con il laser. L'ottimizzazione del tempo di eccitazione per le analisi basate sulla tecnologia Alpha può aiutare a ridurre al minimo lo sbiancamento dei campioni e migliorare il rapporto segnale/rumore.

10.4.3 Coperchi scuri per la protezione dalla luce

Per i lettori SPARK dotati del modulo impilatore Spark-Stack opzionale è disponibile un kit di coperchi scuri per la protezione dalla luce (coperchio frontale e superiore) per i caricatori di piastre. Si tratta di elementi di facile inserimento, utili per proteggere dalle luci del laboratorio le piastre contenenti sostanze sensibili alla luce. Di conseguenza, raccomandiamo di utilizzare questi coperchi scuri quando si eseguono delle misurazioni automatizzate walk-away basate su tecnologia Alpha ricorrendo al modulo impilatore Spark-Stack (consultare il capitolo 15.1.2 Protezione dalla luce per campioni sensibili/coperchi scuri).

10.5 Specifiche Alpha

NOTA : Tutte le specifiche sono soggette a modifiche senza preavviso.

10.5.1 Specifiche generali e prestazionali

Parametri	Specifica
Tempo di eccitazione/pozzetto	10 - 1.000 ms
Tempo d'integrazione/pozzetto	10 - 60.000 ms
Filtro predefinito	AlphaScreen, AlphaLISA, AlphaPlex
Correzione della temperatura	disponibile
Limite di rilevamento piastre a basso volume a 384 pozzetti (Omnibeads)	< 12,5 ng/ml
Uniformità piastre a basso volume a 384 pozzetti (Omnibeads)	< 8 CV%

10.6 Controllo qualità del modulo Alpha

10.6.1 Test di controllo qualità periodici

A seconda dell'utilizzo e dell'applicazione, si consiglia una valutazione periodica dello strumento presso un centro Tecan.

I test descritti nei successivi capitoli non sostituiscono una valutazione completa da parte del produttore o dei rivenditori autorizzati. Tuttavia, possono essere eseguiti periodicamente dall'utente per verificare aspetti significativi delle prestazioni dello strumento.

I risultati sono fortemente influenzati da errori di pipettatura e dall'impostazione dei parametri nello strumento. Per tale ragione, è fondamentale attenersi scrupolosamente alle istruzioni. L'utente deve determinare gli intervalli appropriati per questi test in base alla frequenza di utilizzo dello strumento.

Si consiglia di adattare questi test e i criteri di accettazione all'applicazione principale di laboratorio. Idealmente questi test devono essere eseguiti con le piastre, il fluoroforo, i buffer, i volumi e tutte le impostazioni appropriate (filtri, flash, ritardi, ecc.).



AVVERTENZA : Prima di avviare le misurazioni, accertarsi che la posizione A1 della micropiastra sia inserita correttamente. Il pozzetto A1 deve trovarsi in alto a sinistra.



AVVERTENZA : Se i risultati di questi test di controllo non rientrano nelle specifiche ufficiali dello strumento, contattare il centro di assistenza locale per ulteriori informazioni.

10.6.2 Limite di rilevamento di AlphaScreen Omnibeads – Piastre a 384 pozzetti

Il limite di rilevamento è la quantità minima di una sostanza che può essere distinta dal bianco nell'ambito di un limite di confidenza stabilito.

Prima della pipettatura della piastra, preparare lo strumento per la misurazione e avviare la misurazione immediatamente dopo la pipettatura.



CAUTELA : Accendere lo strumento almeno 15 minuti prima di avviare una misurazione per garantire condizioni stabili per l'operazione.

Materiale

- AlphaScreen Omnibeads
- Piastra a 384 pozzetti Greiner, fondo piatto, bianca
- Soluzione salina tamponata con fosfato (PBS)
- Pipette + puntali

Procedura

Diluire la soluzione madre Omnibeads 1:500 in PBS aggiungendo 3 µl della soluzione madre (5 mg/ml) a 1497 µl PBS ottenendo una soluzione di 10 µg/ml. Preparare altre 12 diluizioni in fasi 1:2 pipettando 750 µl della precedente fase di diluizione in 750 µl di PBS. Utilizzare un puntale nuovo per ogni fase di diluizione.

Pipettare 100 µl di ogni diluizione in 5 pozzetti replicati della micropiastra conformemente al layout della piastra. Utilizzare 100 µl di PBS per i pozzetti di bianco.

CAUTELA : Utilizzare un puntale nuovo per ogni concentrazione e prestare attenzione a NON contaminare il bianco con diluizioni Omnibeads.

Layout della piastra

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	...	24
A		10.00 µg/ml											
B		5.00 µg/ml											
C		2.50 µg/ml											
D		1.25 µg/ml											
E		0.62 µg/ml											
F		0.31 µg/ml											
G		0.15 µg/ml											
H		0.08 µg/ml											
I		0.04 µg/ml											
J		0.02 µg/ml											
K		0.01 µg/ml											
L		0.005 µg/ml											
M		0.0025 µg/ml											
N		PBS											
O													
P													

100 µl di ogni concentrazione Omnibeads (5 pozzetti replicati ciascuna)
100 µl di PBS = Bianco

Parametri di misurazione

Modalità di misurazione:	AlphaScreen
Tempo di eccitazione:	100 ms
Tempo d'integrazione:	300 ms
Correzione della temperatura:	attivata
File definizione piastra:	GRE384fw

Valutazione

Calcolare la media e la deviazione standard per ogni concentrazione Omnibeads. Eseguire una riduzione del bianco sottraendo il segnale medio dei pozzetti di bianco dal segnale medio di ogni concentrazione Omnibeads.

Tracciare i valori medi corretti per il bianco rispetto alla concentrazione Omnibeads finale in un diagramma di dispersione XY. Aggiungere una linea di tendenza lineare con intercetta impostata su 0 e risolvere l'equazione della linea di tendenza (y=kx) utilizzando la deviazione standard del bianco moltiplicata per 3 come y.

$$x = \frac{y}{k}$$

y = 3*deviazione standard del bianco

Estrapolare il limite di rilevamento [ng/ml] utilizzando la deviazione standard del bianco moltiplicata per 3 come y.

10.6.3 Uniformità di AlphaScreen Omnibeads – Piastre a 384 pozzetti

L'uniformità definisce le variazioni da pozzetto a pozzetto durante la misurazione di una piastra multipozzetto. L'uniformità viene calcolata come deviazione percentuale dal valore medio.

Prima della pipettatura della piastra, preparare lo strumento per la misurazione e avviare la misurazione immediatamente dopo la pipettatura.



CAUTELA : Accendere lo strumento almeno 15 minuti prima di avviare una misurazione per garantire condizioni stabili per l'operazione.

Materiale

- AlphaScreen Omnibeads
- Piastra a 384 pozzetti Greiner, fondo piatto, bianca
- Soluzione salina tamponata con fosfato (PBS)
- Pipette + puntali

Procedura

Diluire la soluzione madre Omnibeads 1:2000 in PBS aggiungendo 3 µl della soluzione madre (5 mg/ml) a 5997 µl PBS ottenendo una soluzione di 2,5 µg/ml.

Pipettare 100 µl della diluizione Omnibeads nei pozzetti della micropiastra conformemente al layout della piastra.

Layout della piastra

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
A	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
B																								
C	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
D																								
E	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
F																								
G	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
H																								
I	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
J																								
K	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
L																								
M	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
N																								
O	O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
P																								

O: Diluizione Omnibeads 100 µl/pozzetto (2,5 µg/ml)

Parametri di misurazione

Modalità di misurazione:	AlphaScreen
Tempo di eccitazione:	100 ms
Tempo d'integrazione:	300 ms
Correzione della temperatura:	attivata
File definizione piastra:	GRE384fw

Valutazione

Calcolare il valore di uniformità come segue:

$$\text{Uniformity} \quad (\text{CV}\%) = \frac{\text{SD}_{\text{O}} * 100}{\text{mean}_{\text{O}}}$$

SD_O	Deviazione standard di pozzetti riempiti con 2,5 µg/ml di soluzione Omnibeads
$mean_O$	Media di pozzetti riempiti con 2,5 µg/ml di Omnibeads

11 Assorbanza

11.1 Tecniche di misurazione dell'assorbanza

11.1.1 Assorbanza

Il segnale di assorbanza quantifica l'entità dell'assorbimento di una luce monocromatica trasmessa attraverso un campione.

11.1.2 Scansione in assorbanza

La scansione in assorbanza rileva il comportamento dei composti sotto esame in relazione all'assorbanza e all'interno di uno specifico intervallo di lunghezze d'onda.

11.2 Modulo cuvette

Le applicazioni con utilizzo di cuvette possono essere eseguite con qualsiasi lunghezza d'onda compresa tra 200 e 1000 nm. Il cammino ottico del modulo cuvette è simile al cammino ottico del modulo standard per assorbanza. Un fascio di fibra guida la luce dal monocromatore all'ottica di assorbanza, che focalizza la luce all'interno delle cuvette. La luce trasmessa viene rilevata da un fotodiodo.

11.2.1 Ottica delle cuvette

Il modulo cuvette per assorbanza è composto da lampada flash, monocromatore, fibra ad assorbanza e fotodiodo (figura).

La luce della lampada flash allo xenon [1] (fonte di luce) passa attraverso un filtro divisore di fascio [2] e viene focalizzato sulla fessura d'entrata di un monocromatore a reticolo singolo [3] per opera di uno specchio condensatore. Muovendo il reticolo ottico, si seleziona la lunghezza d'onda per la misurazione, che viene focalizzata sulla fessura di uscita del monocromatore. Lì la luce entra nella fibra ad assorbanza [4] che guida la luce sul campione presente nella cuvetta [5]. Una parte della luce si riflette sul fotodiodo di riferimento. La luce trasmessa viene rilevata dal fotodiodo di misurazione [6]. Nel punto focale, il diametro di spot del fascio di luce incidente sulla cuvetta ad assorbanza è di circa 1 mm.

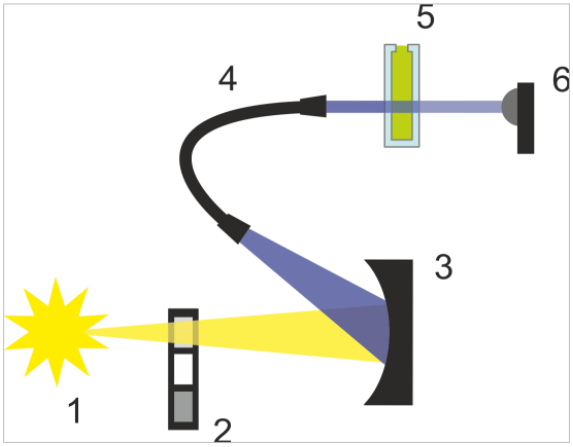


Figura 7: Sistema ottico del modulo cuvette ad assorbanza
Lampada flash allo xenon [1] (fonte di luce), filtro divisore di fascio [2], reticolo ottico [3], fibra ad assorbanza [4], cuvette [5], fotodiodo di misurazione [6]

Rilevamento

Per la misurazione della luce trasmessa viene usato un fotodiodo in silicio. È sensibile a un'ampia gamma di lunghezze d'onda. Il fotodiodo è particolarmente idoneo per i livelli di luce delle misurazioni di assorbanza inferiori a 4 OD.

11.3 Apparecchi di misurazione

11.3.1 Micropiastre

Per la misurazione dell'assorbanza vengono solitamente utilizzate micropiastre trasparenti o trasparenti ai raggi UV. Per valori di OD elevati, sono più indicate le micropiastre nere con fondo trasparente. In generale, per ottenere valori accurati è preferibile evitare misurazioni al di sopra di 3 OD, soprattutto se si usano piastre a 1.536 pozzetti. Diluendo i campioni di analisi si otterranno dati più accurati.



CAUTELA : Usare micropiastre compatibili con i raggi UV per le misurazioni dell'assorbanza nella gamma delle lunghezze d'onda UV.



NOTA : Per la misurazione dell'assorbanza degli acidi nucleici in piccoli volumi (2 µl) usare la piastra Tecan NanoQuant. Con questo dispositivo è possibile effettuare la misurazione su 16 diversi campioni in una volta sola.



NOTA : Per ottenere dati di misurazione più accurati, è preferibile evitare i valori superiori a 3 OD.

11.3.2 Adattatore per cuvette

L'adattatore per cuvette prodotto da Tecan consente di effettuare la misurazione contemporanea su quattro cuvette. Fare riferimento alla tabella sottostante per individuare le dimensioni più appropriate delle cuvette. Quando si utilizza l'adattatore per cuvette, assicurarsi che la cuvetta sia ben chiusa e inserita in posizione orizzontale, in modo da evitare la fuoriuscita del liquido. Inoltre, la cuvetta deve essere colmata fino al massimo volume di riempimento, affinché non si formino bolle d'aria nella finestra di misurazione.

L'adattatore per cuvette è progettato per effettuare le misurazioni con cuvette corrispondenti alle seguenti dimensioni (tabella):

Dimensione	Parametri
Altezza totale (coperchio incluso)	35 - 55 mm
Ingombro (dimensioni esterne)	12,5 x 12,5 mm
Cammino ottico	10 mm*

* Nel caso in cui si usi una cuvetta con cammino ottico diverso, i risultati della misurazione devono essere corretti di conseguenza.



CAUTELA : Quando si effettua una misurazione utilizzando l'adattatore per cuvette, assicurarsi sempre che le cuvette siano colmate fino al massimo volume di riempimento, per evitare la formazione di bolle d'aria nella finestra di misurazione. Chiudere strettamente la cuvetta per evitare la fuoriuscita del liquido.

11.3.3 Alloggiamento per cuvette

Anziché utilizzare una micropiastra, è possibile effettuare la misurazione dell'assorbanza inserendo la cuvetta nell'apposito alloggiamento presente sullo strumento. L'alloggiamento per cuvette è progettato per effettuare le misurazioni con cuvette corrispondenti alle seguenti dimensioni (tabella):

Dimensione	**Parametri**
Altezza totale (coperchio incluso)	35 - 55 mm
Ingombro (dimensioni esterne)	12,5 x 12,5 mm
Cammino ottico	10 mm*
Altezza parte centrale	15 mm
Finestra di misurazione	> 2 x 2 mm

* Nel caso in cui si usi una cuvetta con cammino ottico diverso, i risultati della misurazione devono essere corretti di conseguenza.



CAUTELA : Usare sempre un volume di riempimento valido. Assicurarsi che il livello del liquido nella cuvetta superi i 20 mm (in altezza). Se il livello del liquido è troppo basso, i risultati saranno errati.



CAUTELA : L'alloggiamento per cuvette ha una finestra di misurazione di 2 x 2 mm e un'altezza di 15 mm nella parte centrale.



CAUTELA : La cuvetta va inserita nel porta-cuvette in modo tale che la finestra di misurazione della cuvetta si allinei con la finestra di misurazione del porta-cuvette. Per inserire correttamente la cuvetta, seguire la direzione indicata dalla freccia presente sull'alloggiamento per cuvette.



CAUTELA : Chiudere bene l'alloggiamento per cuvette quando non è in uso. Eventuali contaminazioni portano a risultati errati.



CAUTELA : Prima di dare il via a una misurazione su una cuvetta, assicurarsi che la cuvetta sia inserita correttamente nell'apposito alloggiamento. Un allineamento non corretto porta a risultati errati.



NOTA : Per raggiungere la massima velocità, le scansioni in assorbanza vengono effettuate con un flash. Si può ottenere un aumento proporzionale della velocità di misurazione fino a un'ampiezza del passo pari a 4 nm. Nel caso in cui vengano definite ampiezze di passo superiori, l'aumento della velocità di misurazione non sarà più proporzionale all'ampiezza del passo selezionata. Per ulteriori informazioni, consultare le istruzioni di SparkControl.



NOTA : Aumentare il numero di flash per pozzetto, finché il rumore dei pozzetti bianchi non viene più migliorato, oppure fin quando il tempo di misurazione di ciascun pozzetto non si prolunghi in modo inaccettabile.



NOTA : Per ottenere dati di misurazione accurati, ricorrere a un tempo di pausa per i formati di piastra contenenti da uno a 96 pozzetti.

11.4 Definizione delle misurazioni di assorbanza

Il software SparkControl fornisce due strisce separate per misurazione:

- assorbanza
- scansione in assorbanza

La disponibilità delle strisce dipende dalla configurazione dello strumento collegato.

Correzione della lunghezza del percorso:

La funzione di **correzione della lunghezza del percorso** consente di modificare i valori dell'assorbanza risultanti dall'analisi dei campioni posti nelle micropiastre. Lo scopo è impostare la lunghezza del percorso a 1 cm in modo da poter confrontare i risultati della misurazione con i risultati ottenuti dalla lettura delle cuvette o eseguire l'analisi quantitativa dei campioni in base al loro coefficiente di estinzione.

Per ulteriori informazioni, consultare le istruzioni di SparkControl.

NOTA : L'assorbimento dell'acqua dipende dalla temperatura. Assicurarsi che tutte le misurazioni siano eseguite esattamente alla stessa temperatura.

NOTA : L'assorbimento di luce con lunghezze d'onda comprese tra 900 e 1000 nm da parte dei componenti dei saggi interferisce con la correzione della lunghezza del percorso.

NOTA : Si prega di notare che le caratteristiche dei buffer (concentrazione di sali), dei solventi organici, del menisco e delle piastre possono influire sul risultato della misurazione con lunghezza del percorso modificata.

CAUTELA : I campioni torbidi possono portare a una falsa stima della lunghezza del percorso a causa della dispersione della luce. La correzione della lunghezza del percorso tramite cuvetta non è in grado di compensare questo effetto.

NOTA : Assicurarsi che il fattore di correzione applicato manualmente corrisponda alle lunghezze d'onda di prova e di riferimento selezionate per il campione acquoso e che sia stato determinato con il corrispondente buffer campione.

11.5 Applicazione NanoQuant

Tecan fornisce l'applicazione ottimizzata NanoQuant utile per:

- la quantificazione degli acidi nucleici
- l'efficienza di etichettatura degli acidi nucleici
- la quantificazione delle proteine

L'applicazione esegue automaticamente il calcolo relativo ai contenuti di acidi nucleici, di proteine e di colorante ed effettua i controlli di purezza.

Per ulteriori dettagli, consultare il capitolo App NanoQuant nelle istruzioni di SparkControl.

11.6 Specifiche di assorbanza

NOTA : Tutte le specifiche sono soggette a modifiche senza preavviso.

11.6.1 Specifiche generali

Parametri	Caratteristiche
Intervallo di lunghezza d'onda	200 - 1000 nm, selezionabile a passi di 1 nm
Precisione della lunghezza d'onda	≤ 0.8 nm
Ripetibilità della lunghezza d'onda	≤ 0.5 nm
Larghezza di banda di lunghezze d'onda fisse	3,5 nm
Intervallo di misurazione	0 - 4 OD

11.6.2 Specifiche prestazionali delle micropiastre

Tipo di piastra/ Volume di riempimento	Parametri	Specifica	Criteri
Piastra a 96 pozzetti, trasparente, 200 µl	Flash per pozzetto: 25	Accuratezza 0–0,8 OD	+/- 0,008 OD
Piastra a 96 pozzetti, trasparente, 200 µl	Flash per pozzetto: 25	Accuratezza 0,8-2,5 OD	< +/- 1,0%
Piastra a 96 pozzetti, trasparente, 200 µl	Flash per pozzetto: 25	Accuratezza 2,5-3,0 OD	< +/- 1,5%
Piastra a 96 pozzetti, trasparente, 200 µl	Flash per pozzetto: 25	Precisione 0-1,2 OD	< +/- 0,006 OD
Piastra a 96 pozzetti, trasparente, 200 µl	Flash per pozzetto: 25	Precisione 1,2-3,0 OD	< +/- 0,5%
Piastra a 96 pozzetti, trasparente agli UV, 200 µl	Flash per pozzetto: 25	Linearità 0–3 OD a 260 nm	R2 > 0,999
Piastra a 96 pozzetti, trasparente, 200 µl	Flash per pozzetto: 25	Uniformità a 1 OD	< 3 %

11.6.3 Tempi di misurazione

Parametri	Tempo di misurazione
Tempo di misurazione per 96 pozzetti, 1 flash	< 14 secondi
Tempo di misurazione per 384 pozzetti, 1 flash	< 30 secondi
Scansione rapida (200-1000 nm, a passi di 1 nm)	< 5 secondi

I tempi di lettura rapidi sono determinati dall'uso di un solo flash; il tempo di estrazione e reinserimento della piastra non è conteggiato nel tempo di misurazione.

11.6.4 Specifiche prestazionali delle cuvette (alloggiamento cuvette)

Tipo di cuvetta	Parametri	Specifica	Criteri
Cuvetta di quarzo, percorso del raggio 1 cm	Flash: 25 Lunghezza d'onda: 260 nm	Limite di rilevamento (DNA)	< 0,2 ng/µl dsDNA
Cuvetta di quarzo, percorso del raggio 1 cm	Flash: 25 Lunghezza d'onda: 280 nm	Limite di rilevamento (proteina: BSA, IgG, lisozima)	< 0,1 mg/ml
Cuvetta di quarzo, percorso del raggio 1 cm	Flash: 1	Scansione rapida (200-1000 nm, a passi di 1 nm)	< 5 secondi

11.7 Controllo qualità del modulo per assorbanza

11.7.1 Test di controllo qualità periodici

A seconda dell'utilizzo e dell'applicazione, si consiglia una valutazione periodica dello strumento presso un centro Tecan.

I test descritti nei successivi capitoli non sostituiscono una valutazione completa da parte del produttore o dei rivenditori autorizzati. Tuttavia, questi test possono essere eseguiti periodicamente dall'utente per verificare alcuni aspetti significativi legati alle prestazioni dello strumento.

I risultati sono fortemente influenzati da errori di pipettatura e dall'impostazione dei parametri nello strumento. Per tale ragione, è fondamentale attenersi scrupolosamente alle istruzioni. L'utente deve determinare gli intervalli appropriati per questi test in base alla frequenza di utilizzo dello strumento.



CAUTELA : Prima di avviare le misurazioni, accertarsi che la micropiastra sia inserita correttamente. Il pozzetto A1 deve trovarsi in alto a sinistra.



AVVERTENZA : Se i risultati di questi test di controllo non sono conformi alle specifiche dello strumento riportate nel presente manuale, contattare il centro di assistenza locale per ulteriori informazioni.

11.7.2 Uniformità piastra a 96 pozzetti

L'uniformità è la misurazione delle variazioni da pozzetto a pozzetto durante la misurazione di una piastra multipozzetto. L'uniformità viene calcolata come deviazione percentuale dal valore medio.

Materiale

- Arancio G [60 mg/l] diluito in acqua distillata (Sigma-Aldrich, O3756)
- Piastra a 96 pozzetti Greiner, fondo piatto, trasparente
- Pipetta + puntali

Procedura

Pipettare 200 µl di reagente nei pozzetti di una piastra Greiner da 96 pozzetti (fondo piatto, trasparente), conformemente al layout della piastra.

Layout della piastra

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

OG: arancio G [60 mg/l]

Parametri di misurazione

Modalità di misurazione:	assorbanza
Lunghezza d'onda per la misurazione:	492 nm
Numero di flash:	25
Tempo di pausa:	300 ms
File definizione piastra:	GRE96ft

Valutazione

Calcolare il valore di uniformità (CV %) come segue:

$$\text{Uniformity} \quad (\text{CV}\%) \quad = \frac{SD_{OG} * 100}{\text{mean}_{OG}}$$

SD_{OG}	Deviazione standard di pozzetti riempiti con OG
mean_{OG}	Media di pozzetti riempiti con OG

11.7.3 Controllo qualità della piastra NanoQuant

Materiale

- Buffer Tris-EDTA (BioThema, n. 21-103)
- Piastra Tecan NanoQuant
- Pipetta + puntali

Procedura

Pipettare 2 µl di reagente su tutte le posizioni della piastra NanoQuant.

Parametri di misurazione

Avviare l'applicazione NanoQuant ed eseguire la procedura di misurazione del valore medio del bianco su tutti i pozzetti (16 posizioni).

Valutazione

Il test può considerarsi riuscito se i risultati relativi al valore medio del bianco a 260 OD corrispondono a un valore non superiore al 10% (CV). Se il valore medio del bianco è oltre questo limite, i pozzetti che hanno fallito il test vengono evidenziati, ciò vuol dire che i suddetti pozzetti sono stati sporcati da lanugine, impronte digitali, ecc.

12 Fluorescenza

12.1 Modulo di intensità di fluorescenza

Il modulo di fluorescenza fa parte dei sistemi Fusion Optics. È possibile effettuare la selezione della lunghezza d'onda per eccitazione ed emissione mediante il monocromatore o grazie all'opzione filtro. Le due modalità monocromatore e filtro sono combinabili separatamente ai fini dell'eccitazione e dell'emissione, per cui il sistema di rilevamento risulta estremamente flessibile e assicura la massima potenza del segnale. Inoltre, i segnali di fluorescenza possono essere letti dall'alto o dal basso.

12.1.1 Opzioni modulo fluorescenza fondo

Lo SPARK può essere equipaggiato sia con il modulo Fluorescenza standard che con il modulo Fluorescenza avanzato. In generale, il modulo Fluorescenza avanzato è più sensibile del modulo Fluorescenza standard.

Il modulo fluorescenza standard Fondo può essere dotato di fibra VIS o UV-VIS. Il modulo fluorescenza avanzato Fondo è già dotato di fibra UV-VIS per impostazione predefinita.

Per ulteriori informazioni sulle differenze esistenti tra modulo fluorescenza standard e modulo fluorescenza avanzato, consultare il capitolo Modulo fluorescenza Cima nella Guida di riferimento.

12.2 Apparecchi di misurazione

12.2.1 Filtri

I filtri ottici (filtri passa-banda) sono montati sulle slitte dei filtri. I valori di trasmissione spettrale e la larghezza di banda della fluorescenza sono ottimizzati per ottenere il massimo grado di sensibilità.

Rivolgersi a Tecan per informazioni in merito a filtri diversi da quelli forniti con le slitte dei filtri.

12.2.2 Slitte dei filtri

Due slitte separate, una per l'eccitazione e l'altra per l'emissione, consentono all'utente di effettuare le misurazioni di fluorescenza lavorando con sei paia di filtri indipendenti. Le informazioni relative ai filtri inseriti vengono salvate sul microchip integrato in ciascuna slitta del filtro.



CAUTELA : Sono disponibili due diverse tipologie di filtri. È importante che la luce che attraversa il filtro viaggi nella giusta direzione. Prima di inserire un nuovo filtro, prestare la massima attenzione all'orientamento del filtro e alla direzione della luce che attraversa la slitta del filtro.

Alcuni filtri sono provvisti di una freccia che indica la direzione nella quale deve viaggiare la luce.



Nel caso dei filtri sprovvisti di freccia, l'estremità con bordo scanalato deve essere posizionata contro la fonte di luce.

I filtri hanno due estremità: una con bordo scanalato, l'altra con bordo liscio.

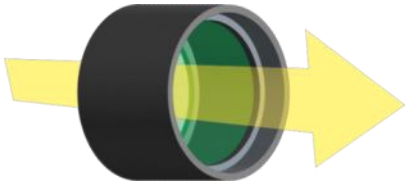
Estremità con bordo scanalato	Estremità senza bordo scanalato
	
Direzione della luce attraverso il filtro:	
	

Figura 8: La luce viaggia dall'estremità con bordo liscio all'estremità con bordo scanalato.

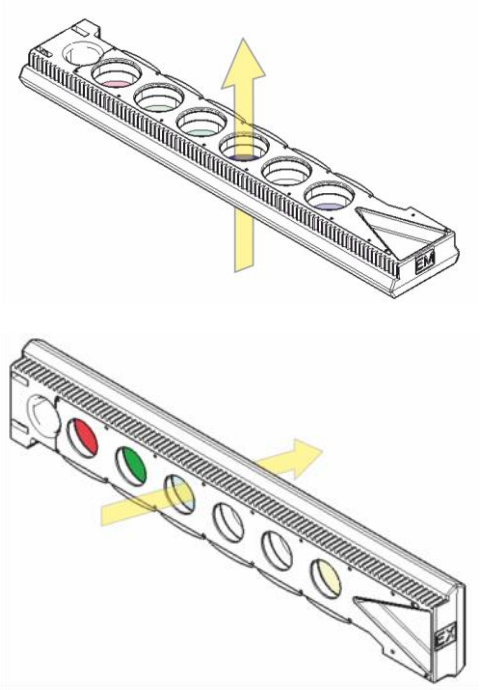


Figura 9: Direzione della luce attraverso le slitte dei filtri.

12.2.3 Installazione e rimozione dei filtri

Per installare o rimuovere i filtri dalla slitta del filtro di eccitazione o emissione non sono necessari strumenti speciali.

Per installare un filtro, basta tenere premuto il pulsante presente di fianco al vano filtro appropriato, inserire il filtro e rilasciare il pulsante per fissare il filtro nel vano. Verificare che il filtro sia posizionato saldamente sul fondo del vano filtro.

NOTA : Assicurarsi che i filtri siano inseriti nella direzione corretta.

CAUTELA : I filtri sono componenti ottici di precisione, per cui è necessario maneggiarli prendendoli dai lati, bisogna fare attenzione a non graffiarli e non vanno conservati a faccia in giù in un cassetto. Una volta installati nella slitta, i filtri sono relativamente ben protetti, ma bisogna adottare la massima cautela nel maneggiarli o conservarli.

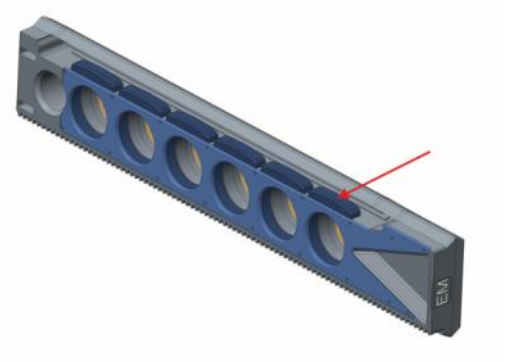


Figura 10: Per rimuovere il filtro, premere il pulsante presente di fianco al vano filtro appropriato (vedere figura precedente), girare la slitta e far scivolare il filtro fuori dal vano filtro.

12.2.4 Inserimento delle slitte dei filtri

Per inserire le slitte dei filtri, aprire manualmente lo sportello. La slitta del filtro di eccitazione e quella del filtro di emissione sono etichettate in modo diverso per essere facilmente identificabili. Far scivolare delicatamente le slitte dei filtri nei rispettivi vani come da istruzioni (per primo il lato dove risiede il chip) e spingerle fin quando il meccanismo non le ritrae automaticamente.

CAUTELA : Non continuare a spingere la slitta nello strumento dopo che il meccanismo ha iniziato a ritrarla.

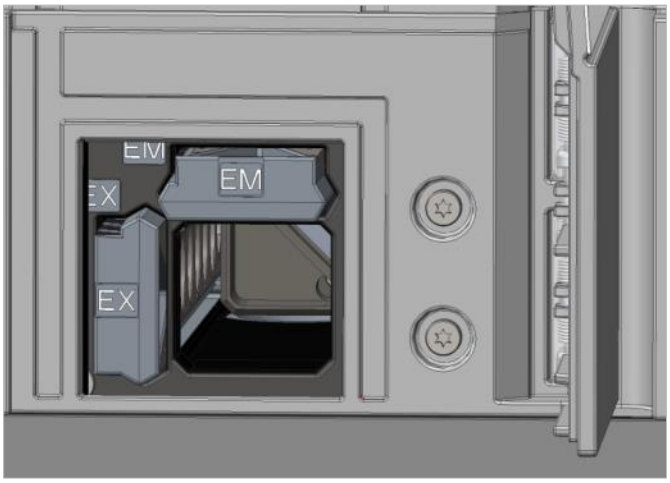


Figura 11: Inserimento delle slitte dei filtri

Espellere le slitte dei filtri usando il software o mediante il pulsante di controllo integrato posto sul davanti dello strumento (consultare il capitolo 2.6 Pulsanti di controllo integrati nello strumento).

12.2.5 Definizione filtri



CAUTELA : Qualsiasi modifica ai filtri delle slitte deve essere effettuata da personale adeguatamente formato! Lo strumento è in grado di riconoscere slitte per filtri cui corrispondono impostazioni predefinite, per cui si sconsiglia di tentare di modificare i valori relativi ai filtri.

Tuttavia, se i filtri nella slitta sono stati cambiati o se si vuole utilizzare una nuova slitta personalizzata e priva di impostazioni predefinite, è necessario provvedere alla definizione della slitta dei filtri.

È possibile definire un filtro personalizzato nella **finestra Definizione filtri** presente nel dashboard o nell'editor di metodo.

Per ulteriori informazioni, consultare la Guida di riferimento.



NOTA : È consentito l'uso di caratteri latini alfanumerici e di alcuni caratteri speciali, inclusi lo spazio, ?, $, %, ., /.



CAUTELA : Si consiglia di annotare l'ultimo numero di flash conteggiati prima di sostituire un filtro. In caso contrario, questa informazione andrà persa.

12.2.6 Slitte degli specchi

Per tutte le misurazioni di fluorescenza Cima vengono utilizzati degli specchi, che hanno la funzione di riflettere la luce di eccitazione sui campioni. Nel caso del modulo fluorescenza standard Cima, la slitta degli specchi è dotata di due diversi tipi di specchio, mentre nel modulo fluorescenza avanzato Cima sono disponibili cinque diverse posizioni per gli specchi (un'opzione per dicroico personalizzato).

Per conoscere le caratteristiche prestazionali dei diversi tipi di specchio e la loro disponibilità per i moduli fluorescenza standard o avanzato, fare riferimento alla tabella sottostante: lo specchio 50% può essere usato per tutte le misurazioni di fluorescenza, indipendentemente dalla lunghezza d'onda selezionata.

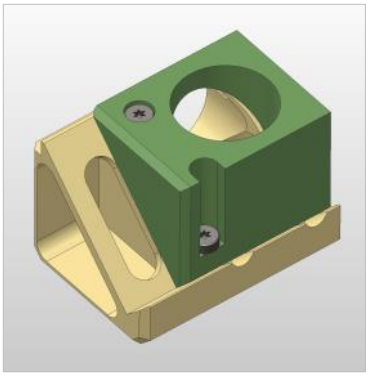
Specchio	Riflesso (eccitazione)	Trasmissione (emissione)	Disponibilità
Specchio 50%	230 - 900 nm	230 - 900 nm	FI Cima standard e avanzato
Dicroico 510 (ad es., fluoresceina, HTRF)	320 - 490 nm	515 - 750 nm	FI Cima standard e avanzato
Dicroico 560 (ad es., Cy3)	510 - 545 nm	575 - 620 nm	FI Cima avanzato
Dicroico 625 (ad es., Cy5)	565 - 610 nm	640 - 700 nm	FI Cima avanzato
Dicroico personalizzato 410	360 - 395 nm	425 - 470 nm	FI Cima avanzato
Dicroico personalizzato 430	380 - 415 nm	445 - 490 nm	FI Cima avanzato
Dicroico personalizzato 458	350 - 450 nm	470 - 900 nm	FI Cima avanzato
Dicroico personalizzato 593	350 - 585 nm	605 - 900 nm	FI Cima avanzato
Dicroico personalizzato 660	350 - 650 nm	670 - 900 nm	FI Cima avanzato

Specchio	Riflesso (eccitazione)	Trasmissione (emissione)	Disponibilità
Specchio dicroico personalizzato (divisore di fascio Polka Dot) Rapporto di divisione del fascio: 50 % ± 5 %	250 - 900 nm	250 - 900 nm	FI Cima avanzato

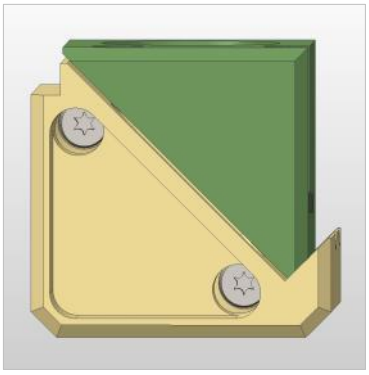
NOTA : Lo specchio dicroico deve corrispondere alla lunghezza d'onda selezionata per eccitazione ed emissione.

12.2.7 Installazione dello specchio dicroico personalizzato

Se lo si desidera, è possibile dotare la slitta degli specchi di uno specchio dicroico personalizzato. Lo specchio dicroico personalizzato viene fornito separatamente in un imballaggio secondario e va installato e definito prima dell'utilizzo.



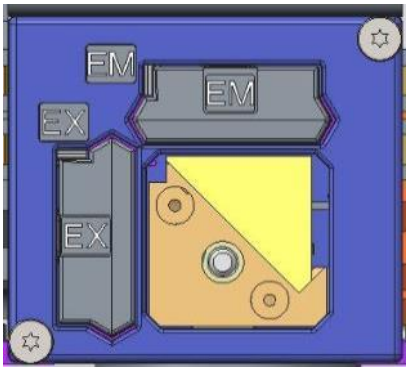
Vista inclinata



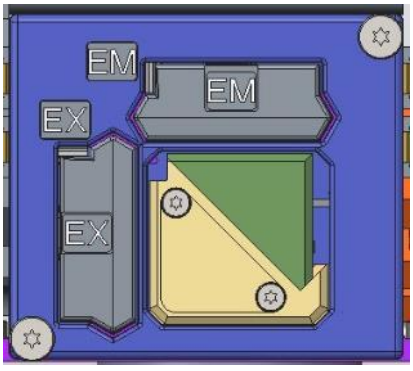
Vista frontale

Per installare lo specchio dicroico, attenersi alle seguenti istruzioni:

1. Aprire la finestra Definizione Specchio nel dashboard o nell'editore di metodo e selezionare **Specchio fuori**. La slitta degli specchi si sposta nella posizione di caricamento.
2. Per installare lo specchio dicroico personalizzato, aprire manualmente lo sportello. Far scivolare il dicroico personalizzato nel porta-specchi, come indicato nella figura sottostante. Applicare e serrare con cura le viti di montaggio.



Posizione di caricamento



Dicroico personalizzato installato

CAUTELA : Non serrare eccessivamente le viti della slitta degli specchi per evitare di danneggiarla.

3. Rilasciare con delicatezza lo sportello e fare clic su **Specchio dentro**. La slitta degli specchi tornerà dentro allo strumento.
4. Lo specchio dicroico personalizzato è ora pronto per essere definito (consultare il capitolo 12.2.8 Definizione dello specchio dicroico personalizzato).

12.2.8 Definizione dello specchio dicroico personalizzato

CAUTELA : Se si desidera usare un nuovo dicroico, è necessario procedere alla sua definizione nel software.

È possibile definire un dicroico personalizzato nella finestra Definizione specchi presente nel dashboard o nell'editor di metodo.

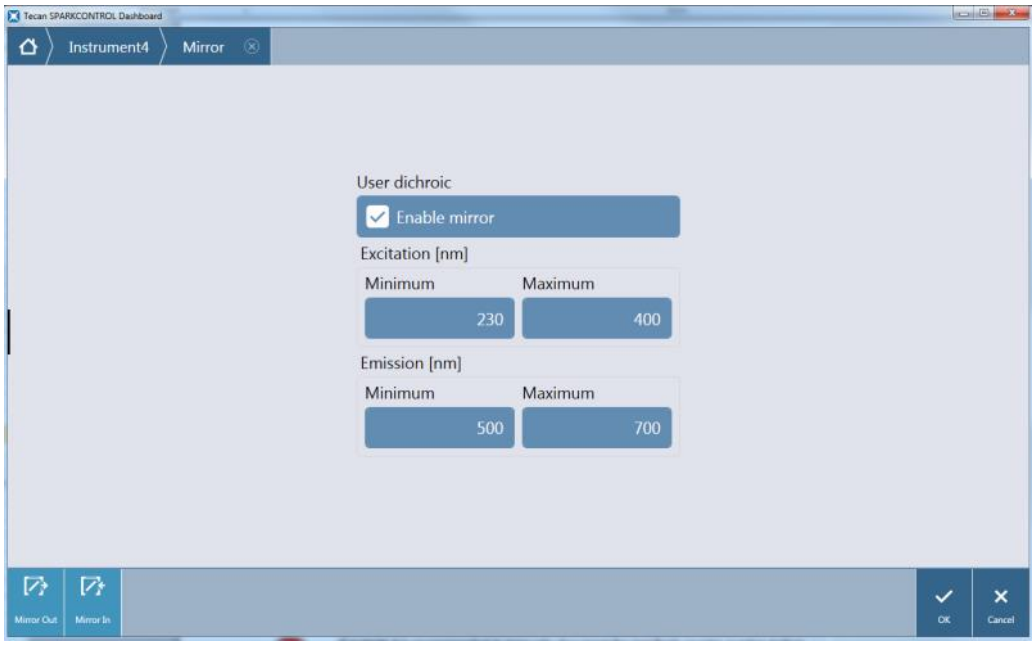


Figura 12: Finestra Definizione specchi

Selezionare **Abilita specchio** e definire gli intervalli di **Eccitazione** e di **Emissione** inserendo le rispettive lunghezze d'onda **Minima** e **Massima**.

12.3 Definizione delle misurazioni di fluorescenza

Il software fornisce tre strisce separate per definire i parametri di misurazione:

- striscia di intensità di fluorescenza
- striscia di intensità di fluorescenza a risoluzione temporale
- striscia di scansione dell'intensità di fluorescenza

La disponibilità delle strisce dipende dalla configurazione dello strumento collegato.

Per ulteriori informazioni, consultare le istruzioni di SparkControl.

NOTA : Tecan fornisce un elenco di fluorofori disponibili in commercio, con i rispettivi spettri di assorbimento e di emissione. Il suddetto elenco di fluorofori non include informazioni relative alla corretta combinazione delle lunghezza d'onda per eccitazione ed emissione. Le lunghezze d'onda per eccitazione ed emissione di ciascun fluoroforo devono essere definite dall'utente.

NOTA : Mentre il tempo di ritardo è una funzione opzionale, il tempo d'integrazione è un parametro obbligatorio che determina la durata della registrazione del segnale. I valori preimpostati per una misurazione dell'intensità di fluorescenza standard corrispondono a un tempo di ritardo di 0 μs e un tempo d'integrazione di 40 μs. Le misurazioni di fluorescenza a risoluzione temporale generalmente richiedono l'impostazione di un tempo di ritardo e il prolungamento del tempo d'integrazione, in base alla specifica applicazione.

12.4 Modulo polarizzazione di fluorescenza

Il modulo di polarizzazione di fluorescenza fa parte dei sistemi Fusion Optics. È possibile effettuare la selezione della lunghezza d'onda per eccitazione ed emissione mediante il monocromatore o grazie all'opzione filtro. Le due modalità monocromatore e filtro sono combinabili separatamente ai fini dell'eccitazione e dell'emissione, per cui il sistema di rilevamento risulta estremamente flessibile e assicura la massima potenza del segnale. L'opzione di polarizzazione è disponibile esclusivamente per le misurazioni Cima.

Per ulteriori informazioni, consultare la Guida di riferimento.

NOTA : Se si usano più pozzetti riempiti con riferimento e bianco di riferimento, saranno calcolati i valori medi e, di conseguenza, il risultato della calibrazione del fattore G sarà più accurata.

NOTA : Per la calibrazione del fattore G, si consiglia di usare un fluoroforo libero o un fluoroforo con un basso valore di polarizzazione.

NOTA : Tecan fornisce un elenco di fluorofori disponibili in commercio, contenente esclusivamente i rispettivi spettri di assorbimento e di emissione. Il suddetto elenco di fluorofori non include informazioni relative alla corretta combinazione delle lunghezza d'onda per eccitazione ed emissione. Le lunghezze d'onda per eccitazione ed emissione di ciascun fluoroforo devono essere definite dall'utente.
Per ulteriori informazioni, consultare la Guida di riferimento.

12.5 Ottimizzazione delle misure di fluorescenza e polarizzazione di fluorescenza

Si rimanda alle istruzioni di SparkControl per una descrizione dettagliata.

NOTA : Se a uno dei pozzetti interessati è assegnato **OVER** (overflow), è possibile ridurre manualmente il guadagno o selezionare un'opzione di guadagno automatico (guadagno ottimale, guadagno da pozzetto).

NOTA : Aumentare il numero di flash per pozzetto, finché il rumore dei pozzetti bianchi non viene più migliorato, oppure fin quando il tempo di misurazione di ciascun pozzetto non si prolunghi in modo inaccettabile.

Scansione posizione Z

NOTA : Se si utilizza l'opzione **Max rapporto S/V** (massimo rapporto segnale/vuoto), viene prima misurato il pozzetto contenente il campione applicando l'opzione "guadagno ottimale". Lo stesso valore di guadagno viene poi usato per la misurazione del pozzetto di bianco. Di conseguenza, si può fare un confronto diretto tra la curva del segnale e quella del bianco.

12.6 Inject and Read (Iniettare e Leggere)

La modalità di misurazione **Inject and Read** (**Iniettare e Leggere**) è progettata per supportare applicazioni che richiedono l'iniezione simultanea e la lettura della fluorescenza fondo, come la misurazione della concentrazione intracellulare di Ca^{2+} con coloranti non ratiometrici sensibili al calcio (ad es. Fluo-4). Consultare il manuale di SparkControl per una descrizione dettagliata.

NOTA : La modalità di misurazione **Iniettare e Leggere** non è compatibile con Spark Cyto e, pertanto, non può essere utilizzata in combinazione con il modulo Cell Imager.

NOTA : Tecan fornisce un elenco di fluorofori disponibili in commercio, con i rispettivi spettri di assorbimento e di emissione. Il suddetto elenco di fluorofori non include informazioni relative alla corretta combinazione delle lunghezza d'onda per eccitazione ed emissione. Le lunghezze d'onda per eccitazione ed emissione di ciascun fluoroforo devono essere definite dall'utente.

NOTA : La striscia **Iniettare e Leggere** supporta flussi di lavoro solo con coloranti fluorescenti non ratiometrici.

NOTA : Per facilitare la lettura rapida dell'intensità di fluorescenza fondo, il numero di flash è impostato su 1 e non può essere modificato dall'utente. Inoltre, non sono supportate letture multiple per pozzetto.

NOTA : Il riempimento della siringa viene eseguito sempre prima di ogni iniezione.

NOTA : Una misurazione **Iniettare e Leggere** può contenere un valore complessivo di 1000 punti di misurazione, cioè punti dati per pozzetto. Il numero di punti dati risulta dai valori definiti per la durata e l'intervallo di tempo. Se il valore di 1000 punti viene superato, aumentare l'intervallo di tempo e/o diminuire la durata.

NOTA : A seconda del modulo di fluorescenza fondo di SPARK, il valore minimo dell'intervallo di tempo è rispettivamente di 10 ms (Fluorescenza Avanzata) e 20 ms (Fluorescenza Standard).

NOTA : Se a qualsiasi pozzetto di interesse viene assegnato OVER (overflow), ridurre il guadagno.

12.7 Specifiche di fluorescenza

NOTA : Tutte le specifiche sono soggette a modifiche senza preavviso.

12.7.1 Specifiche generali relative all'intensità di fluorescenza (modulo standard e avanzato)

Se non diversamente indicato, queste specifiche sono valide sia per il modulo standard che per il modulo avanzato.

Intensità di fluorescenza Cima

Parametri	Monocromatore	Filtro
Intervallo di lunghezza d'onda	Eccitazione: 230 – 900 nm Emissione: 280 - 900 nm, selezionabile a passi di 1 nm	Eccitazione: 230 – 900 nm Emissione: 230 – 900 nm
Larghezza di banda modulo standard	20 nm	a seconda del filtro usato
Larghezza di banda modulo avanzato	5, 7,5, 10, 15, 20, 25, 30, 50 nm	a seconda del filtro usato

Intensità di fluorescenza Fondo (monocromatore e opzione filtro)

Parametri	Fibra Fondo standard VIS	Fibra Fondo ottimizzata per UV-VIS
Intervallo di lunghezza d'onda	**Monocromatore e filtro:** 390 - 900 nm, selezionabile a passi di 1 nm (solo monocromatore)	**Monocromatore** Eccitazione: 230 – 900 nm Emissione: 280 - 900 nm, selezionabile a passi di 1 nm **Filtro** Eccitazione: 230 – 900 nm Emissione: 230 – 900 nm
Larghezza di banda modulo standard - Monocromatore	20 nm	
Larghezza di banda modulo ottimizzato - Monocromatore	5; 7,5; 10; 15; 20; 25; 30; 50 nm	
Larghezza di banda modulo standard e ottimizzato - Filtro	A seconda del filtro usato	

NOTA : La fibra fondo ottimizzata per UV-VIS è più sensibile della fibra fondo VIS standard. L'esecuzione di test al di sotto dei 400 nm con la fibra VIS standard porta a risultati con una sensibilità inferiore.

Opzioni di guadagno

Impostazioni di guadagno	Valori
Manuale	1 – 255
Ottimale	Automatico
Calcolato da pozzetto	Automatico
Gamma dinamica ampliata	Automatico
Utilizzo regolazione del guadagno	Automatico

Parametri TRF

Parametri	Caratteristiche
Tempo d'integrazione	20 µs – 2000 µs
Tempo di ritardo	0 µs – 2 ms

Specifiche prestazionali dell'intensità di fluorescenza

Specifiche prestazionali del modulo standard di intensità di fluorescenza Cima

Modulo	Tipo di piastra/ Volume di riempimento	Parametri	Criteri
Monocromatore	Piastra a 96 pozzetti, nera, 200 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 20 pM (1 nM fluoresceina)
Monocromatore	Piastra a 384 pozzetti, nera, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 20 pM (1 nM fluoresceina)
Filtro	Piastra a 96 pozzetti, nera, 200 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 10 pM (1 nM fluoresceina)
Filtro	Piastra a 384 pozzetti, nera, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 10 pM (1 nM fluoresceina)
Monocromatore e filtro	Piastra a 96 pozzetti, nera, 200 µl	Flash per pozzetto: 30	Uniformità: < 3 CV% (25 nM fluoresceina)
Monocromatore e filtro	Piastra a 384 pozzetti, nera, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Uniformità: < 5 CV% (25 nM fluoresceina)

Specifiche prestazionali del modulo avanzato di intensità di fluorescenza Cima

Modulo	Tipo di piastra/ Volume di riempimento	Parametri	Criteri
Monocromatore	Piastra a 384 pozzetti, nera, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 3 pM (1 nM fluoresceina)
Monocromatore	Piastra a 1536 pozzetti, nera, 10 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 10 pM (1 nM fluoresceina)
Filtro	Piastra a 384 pozzetti, nera, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 2 pM (1 nM fluoresceina)
Filtro	Piastra a 1536 pozzetti, nera, 10 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 7 pM (1 nM fluoresceina)
Monocromatore e filtro	Piastra a 384 pozzetti, nera, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Uniformità: < 3 CV% (25 nM fluoresceina)
Monocromatore e filtro	Piastra a 1536 pozzetti, nera, 10 µl	Flash per pozzetto: 30	Uniformità: < 5 CV% (100 nM fluoresceina)

Specifiche prestazionali del modulo standard di intensità di fluorescenza Fondo

Modulo	Tipo di piastra/ Volume di riempimento	Parametri	Criteri
Monocromatore	Piastra a 96 pozzetti, nera, fondo trasparente, 350 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 45 pM (1 nM fluoresceina)
Monocromatore	Piastra a 384 pozzetti, nera, fondo trasparente, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 45 pM (1 nM fluoresceina)
Filtro	Piastra a 96 pozzetti, nera, fondo trasparente, 350 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 35 pM (1 nM fluoresceina)
Filtro	Piastra a 384 pozzetti, nera, fondo trasparente, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 35 pM (1 nM fluoresceina)
Monocromatore e filtro	Piastra a 96 pozzetti, nera, fondo trasparente, 200 µl	Flash per pozzetto: 30	Uniformità: < 3 CV% (25 nM fluoresceina)
Monocromatore e filtro	Piastra a 384 pozzetti, nera, fondo trasparente, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Uniformità: < 5 CV% (25 nM fluoresceina)

Specifiche prestazionali del modulo avanzato di intensità di fluorescenza Fondo

Modulo	Tipo di piastra/ Volume di riempimento	Parametri	Criteri
Monocromatore	Piastra a 96 pozzetti, nera, fondo trasparente, 350 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 30 pM (1 nM fluoresceina)
Monocromatore	Piastra a 384 pozzetti, nera, fondo trasparente, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 30 pM (1 nM fluoresceina)
Monocromatore	Piastra a 1536 pozzetti, nera, fondo trasparente, 10 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 40 pM (1 nM fluoresceina)
Filtro	Piastra a 96 pozzetti, nera, fondo trasparente, 350 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 15 pM (1 nM fluoresceina)
Filtro	Piastra a 384 pozzetti, nera, fondo trasparente, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 17 pM (1 nM fluoresceina)
Filtro	Piastra a 1536 pozzetti, nera, fondo trasparente, 10 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 40 pM (1 nM fluoresceina)
Monocromatore e filtro	Piastra a 384 pozzetti, nera, fondo trasparente, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Uniformità: < 3 CV% (25 nM fluoresceina)
Monocromatore e filtro	Piastra a 1536 pozzetti, nera, fondo trasparente, 10 µl	Flash per pozzetto: 30	Uniformità: < 5 CV% (100 nM fluoresceina)

Specifiche prestazionali del modulo standard per fluorescenza a risoluzione temporale (TRF)

Modulo	Tipo di piastra/ Volume di riempimento	Parametri	Criteri
Monocromatore	Piastra a 96 pozzetti, bianca, 200 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 5 pM (1 nM europio)
Monocromatore	Piastra a 384 pozzetti, bianca, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 5 pM (1 nM europio)
Filtro	Piastra a 96 pozzetti, bianca, 200 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 150 fM (1 nM europio)
Filtro	Piastra a 384 pozzetti, bianca, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 150 fM (1 nM europio)

Specifiche prestazionali del modulo avanzato per fluorescenza a risoluzione temporale (TRF)

Modulo	Tipo di piastra/ Volume di riempimento	Parametri	Criteri
Monocromatore	Piastra a 96 pozzetti, bianca, 200 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 750 fM (1 nM europio)
Monocromatore	Piastra a 384 pozzetti, bianca, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 750 fM (1 nM europio)
Monocromatore	Piastra a 1536 pozzetti, bianca, 10 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 900 fM (1 nM europio)
Filtro	Piastra a 96 pozzetti, bianca, 200 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 75 fM (0,1 nM europio)
Filtro	Piastra a 384 pozzetti, bianca, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 75 fM (0,1 nM europio)
Filtro	Piastra a 1536 pozzetti, bianca, 10 µl	Flash per pozzetto: 30	Limite di rilevamento: < 100 fM (0,1 nM europio)

12.7.2 Specifiche generali relative alla polarizzazione di fluorescenza (modulo di polarizzazione standard e avanzato)

Se non diversamente indicato, queste specifiche sono valide sia per il modulo **Standard** che per il modulo **Avanzato**.

Parametri	Fibra > 390 nm	Fibra per polarizzazione > 300 nm
Intervallo di lunghezza d'onda	**Monocromatore e filtro:** 400 - 850 nm, selezionabile a passi di 1 nm (solo monocromatore)	**Monocromatore e filtro:** 300 - 850 nm, selezionabile a passi di 1 nm (solo monocromatore)
Larghezza di banda per modulo di polarizzazione standard - monocromatore	20 nm	
Larghezza di banda per modulo di polarizzazione avanzato - monocromatore	5, 7,5, 10, 15, 20, 25, 30, 50 nm	
Larghezza di banda per modulo di polarizzazione standard e avanzato - filtro	a seconda del filtro usato	

12.7.3 Specifiche prestazionali della polarizzazione di fluorescenza

Specifiche prestazionali del modulo standard per polarizzazione di fluorescenza (> 300 nm 3e > 390 nm)

Modulo	Tipo di piastra/ Volume di riempimento	Parametri	Criteri
Filtro	Piastra a 96 pozzetti, nera, 200 µl	Flash per pozzetto: 30	Precisione: < 5 mP (1 nM fluoresceina)
Filtro	Piastra a 384 pozzetti, nera, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Precisione: < 5 mP (1 nM fluoresceina)

Specifiche prestazionali del modulo avanzato per polarizzazione di fluorescenza (> 300 nm e > 390 nm)

Modulo	Tipo di piastra/ Volume di riempimento	Parametri	Criteri
Filtro	Piastra a 96 pozzetti, nera, 200 µl	Flash per pozzetto: 30	Precisione: < 3 mP (1 nM fluoresceina)
Filtro	Piastra a 384 pozzetti, nera, 100 µl	Flash per pozzetto: 30	Precisione: < 3 mP (1 nM fluoresceina)
Filtro	Piastra a 1536 pozzetti, nera, 10 µl	Flash per pozzetto: 30	Precisione: < 5 mP (1 nM fluoresceina)

Tempo di misurazione inferiore

Si possono ottenere tempi di misurazione inferiori usando un solo flash, l'opzione guadagno manuale e la posizione Z manuale. Il tempo di estrazione e reinserimento della piastra non è conteggiato nel tempo di misurazione.

Modulo standard

Tecnica di misurazione	Tempo di misurazione	
Tipo di piastra	**a 96 pozzetti**	**a 384 pozzetti**
Filtro intensità di fluorescenza Cima	≤ 13 secondi	≤ 30 secondi
Monocromatore intensità di fluorescenza Cima	≤ 14 secondi	≤ 32 secondi
Monocromatore intensità di fluorescenza Fondo	≤ 21 secondi	≤ 35 secondi

Modulo ottimizzato

Tecnica di misurazione	Tempo di misurazione		
Tipo di piastra	**a 96 pozzetti**	**a 384 pozzetti**	**a 1536 pozzetti**
Filtro intensità di fluorescenza Cima	≤ 13 secondi	≤ 22 secondi	≤ 34 secondi
Monocromatore intensità di fluorescenza Cima	≤ 14 secondi	≤ 23 secondi	≤ 36 secondi
Monocromatore intensità di fluorescenza Fondo	≤ 19 secondi	≤ 24 secondi	≤ 42 secondi

12.8 Controllo qualità del modulo per fluorescenza

12.8.1 Test di controllo qualità periodici

A seconda dell'utilizzo e dell'applicazione, si consiglia una valutazione periodica dello strumento presso un centro Tecan.

I test descritti nella Guida di riferimento non sostituiscono una valutazione completa da parte del produttore o dei rivenditori autorizzati. Tuttavia, questi test possono essere eseguiti periodicamente dall'utente per verificare alcuni aspetti significativi legati alle prestazioni dello strumento.

I risultati sono fortemente influenzati da errori di pipettatura e dall'impostazione dei parametri nello strumento. Per tale ragione, è fondamentale attenersi scrupolosamente alle istruzioni. L'utente deve determinare gli intervalli appropriati per questi test in base alla frequenza di utilizzo dello strumento.

I due capitoli che seguono sono incentrati sui limiti di rilevamento e sull'uniformità delle misurazioni Cima/Fondo delle piastre a 96 pozzetti. Per informazioni sui limiti di rilevamento e l'uniformità relativi a più tipi di piastre, consultare la Guida di riferimento.



CAUTELA : Prima di avviare le misurazioni, accertarsi che la micropiastra sia inserita correttamente. Il pozzetto A1 deve trovarsi in alto a sinistra.



AVVERTENZA : Consultare la Guida di riferimento per informazioni dettagliate sui limiti di rilevamento e l'uniformità relativi a più tipi di piastre. Queste istruzioni descrivono la procedura di controllo qualità per verificare le specifiche dello strumento. Se i risultati di questi test di controllo non sono conformi alle specifiche dello strumento fornite nel presente manuale, contattare il centro di assistenza locale per ulteriori informazioni.

12.8.2 Limite di rilevamento Cima/Fondo – Piastre a 96 pozzetti

Il limite di rilevamento è la quantità minima di sostanza distinguibile dal bianco nell'ambito di un limite di affidabilità stabilito.

Prima della pipettatura della piastra, preparare lo strumento per la misurazione e avviare la misurazione immediatamente dopo la pipettatura.

Materiale

- Fluoresceina, 1 nM in 10 mM di NaOH (fluoresceina sodica, Sigma)
- 10 mM NaOH = Bianco (granuli di NaOH)
- Piastra a 96 pozzetti Greiner, fondo piatto, nera (per misurazione Cima)
- Piastra a 96 pozzetti Greiner, fondo piatto trasparente, nera (per misurazione Fondo)
- Pipette + puntali

Procedura

Pipettare una soluzione contenente 1 nM di fluoresceina o la soluzione in bianco (10 mM NaOH) nei pozzetti appropriati, conformemente al layout della piastra: 200 µl per misurazione Cima e 350 µl per misurazione Fondo.

Layout della piastra

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

F: 200/ 350 µl con 1 nM di fluoresceina
B: 200/ 350 µl bianco (10 mM NaOH)

Parametri di misurazione

	Monocromatore	**Filtro**
Modalità di misurazione	Fluorescenza Cima/Fondo	Fluorescenza Cima/Fondo
Eccitazione	485 nm	485 nm
Larghezza di banda di eccitazione	20 nm	20 nm
Emissione	535 nm	535 nm
Larghezza di banda di emissione	20 nm	25 nm
Flash	30	30
Guadagno	Ottimale	Ottimale
Specchio	Dicroico 510	Dicroico 510
Posizione Z	Calcola da A1	Calcola da A1
File definizione piastra	GRE96fb	GRE96fb

Valutazione

Calcolare il limite di rilevamento (DL) come segue:

$$DL(pM) = \frac{(3 * SD_B * 1000)}{(mean_F - mean_B)}$$

SD_B	Deviazione standard di pozzetti riempiti con bianco (10 mM NaOH)
1000	Concentrazione di fluoresceina in pM
$mean_F$	Media di pozzetti riempiti con 1 nM di fluoresceina
$mean_B$	Media dei pozzetti riempiti con bianco (10 mM NaOH)

12.8.3 Uniformità Cima/Fondo – Piastre a 96 pozzetti

L'uniformità definisce le variazioni da pozzetto a pozzetto durante la misurazione di una piastra multipozzetto. L'uniformità viene calcolata come deviazione percentuale dal valore medio.

Prima della pipettatura della piastra, preparare lo strumento per la misurazione e avviare la misurazione immediatamente dopo la pipettatura.

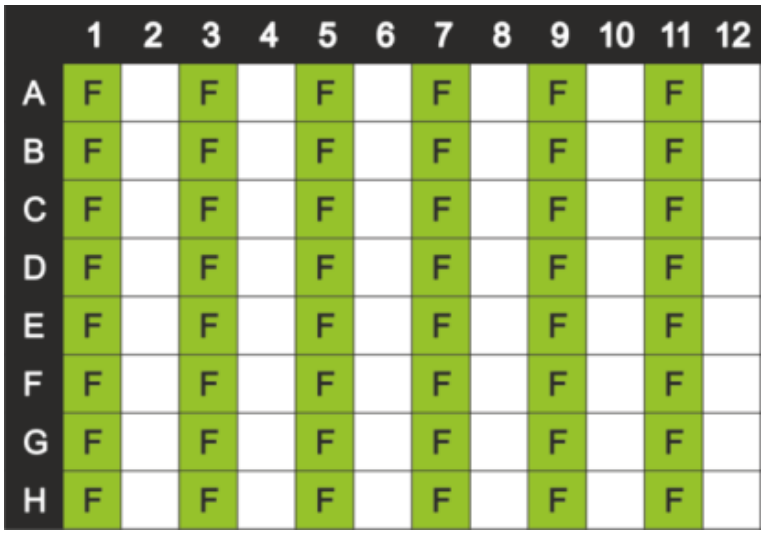
Materiale

- Fluoresceina, 25 nM in 10 mM di NaOH (fluoresceina sodica, Sigma)
- Piastra a 96 pozzetti Greiner, fondo piatto, nera (per misurazione Cima)
- Piastra a 96 pozzetti Greiner, fondo piatto trasparente, nera (per misurazione Fondo)
- Pipette + puntali

Procedura

Pipettare 200 µl di soluzione di fluoresceina nei pozzetti appropriati, conformemente al layout della piastra.

Layout della piastra



F: 200 µl di fluoresceina

Parametri di misurazione

	Monocromatore	Filtro
Modalità di misurazione	Fluorescenza Cima/Fondo	Fluorescenza Cima/Fondo
Eccitazione	485 nm	485 nm
Larghezza di banda di eccitazione	20 nm	20 nm
Emissione	535 nm	535 nm
Larghezza di banda di emissione	20 nm	25 nm
Flash	30	30
Guadagno	Ottimale	Ottimale
Specchio	Dicroico 510	Dicroico 510
Posizione Z	Calcola da A1	Calcola da A1
File definizione piastra	GRE96fb	GRE96fb

Valutazione

Calcolare il valore di uniformità come segue:

$$\text{Uniformity } (CV\%) = \frac{SD_F * 100}{mean_F}$$

SD_F	Deviazione standard di pozzetti riempiti con 25 nM di fluoresceina
$mean_F$	Media di pozzetti riempiti con 25 nM di fluoresceina

13 Modulo cellulare

13.1 Tecniche di misurazione

13.1.1 Conta cellulare/percentuale di cellule vive (viabilità)

Tecan fornisce due applicazioni completamente automatiche per eseguire la conta cellulare e determinare la percentuale di cellule vive mediante cell chip monouso. Entrambe le applicazioni sono ottimizzate per eseguire un regolare controllo di qualità delle colture cellulari su base quotidiana.

13.1.2 Confluenza cellulare

Il valore di confluenza indica la quantità di superficie coperta dalle cellule aderenti. La confluenza cellulare è visualizzata sotto forma di percentuale dell'area misurata. Le misurazioni di confluenza possono essere effettuate in piastre per colture cellulari contenenti da 6 a 96 pozzetti.

13.2 Imaging in campo chiaro

Il modulo cellulare è composto da modulo di illuminazione e modulo fotocamera. I campioni vengono illuminati dalla cima e l'acquisizione dell'immagine avviene dal fondo.

Per ulteriori informazioni, consultare la Guida di riferimento.

13.3 Apparecchi di misurazione

13.3.1 Cell Chip

Tecan fornisce appropriati cell chip monouso composti ciascuno da due camere per campioni. Ciascuna camera ha un volume di riempimento pari a 10 µl e può essere riempita con una pipetta standard appropriata. Per ottenere risultati ottimali, evitare che si formino bolle d'aria nella camera del campione durante l'operazione di riempimento.



CAUTELA : Il corretto funzionamento può essere garantito esclusivamente se i cell chip Tecan vengono usati per la conta cellulare e la determinazione della percentuale di cellule vive. Evitare la formazione di bolle d'aria all'atto di riempire le camere dei campioni del cell chip.



CAUTELA : Prima di utilizzare i cell chip, controllare la data di scadenza. Non garantiamo il funzionamento ottimale nel caso in cui il prodotto risulti scaduto.

13.3.2 Adattatore per Cell Chip

L'adattatore per cell chip di Tecan è progettato per accogliere fino a quattro cell chip. I cell chip hanno angoli smussati, per facilitare il corretto inserimento ed evitare un'acquisizione errata dei dati. Le slitte devono essere inserite correttamente per consentire la chiusura completa dell'adattatore. Il coperchio è assicurato automaticamente grazie a un meccanismo magnetico. L'indicazione della posizione del campione presente sull'adattatore (ad es., A1, A2) corrisponde a quella impostata nel software. Prima di avviare le misurazioni, accertarsi che l'adattatore Cell Chip sia inserito correttamente. L'apertura deve trovarsi sul davanti e la camera A1 deve trovarsi in alto a sinistra.

Per pulire l'adattatore, usare alcol etilico al 70%.



NOTA : Quando viene ordinato il modulo SPARK Cell Module (Option Cell Counting + Imaging), sono inclusi un adattatore per Cell Chip e 15 Cell Chip monouso.

CAUTELA : Prima di avviare le misurazioni, accertarsi che l'adattatore Cell Chip sia inserito correttamente. L'apertura deve trovarsi sul davanti e la camera A1 deve trovarsi in alto a sinistra.

13.3.3 Manutenzione e pulizia dell'adattatore per Cell Chip

L'adattatore per cell chip va pulito secondo la seguente procedura:

1. Indossare guanti, occhiali e indumenti protettivi.
2. Svuotare l'adattatore per cell chip e rimuovere con cura le molle presenti all'interno del coperchio dell'adattatore (consultare la Guida di riferimento per maggiori informazioni).
3. Pulire accuratamente tutte le superfici esterne dell'adattatore e le molle con un panno di carta privo di lanugine imbevuto in alcol etilico al 70%.
4. Lasciar asciugare.
5. Rimontare le molle prima di utilizzare l'adattatore.

CAUTELA : Non usare l'adattatore per cell chip senza prima rimontare le molle! Potrebbero verificarsi errori nella misurazione.

13.4 Definizione delle misurazioni per conta cellulare e confluenza cellulare

Il software SparkControl fornisce due strisce separate per misurazione:

- Cell Counting (Conta cellulare)
- Confluenza cellulare

La disponibilità delle strisce dipende dalla configurazione dello strumento collegato.

Per ulteriori informazioni, consultare le istruzioni di SparkControl.

La procedura automatica di determinazione della confluenza cellulare è ottimizzata per le micropiastre a 96 pozzetti per colture tissutali. In base alle caratteristiche delle micropiastre, la confluenza cellulare nei pozzetti vuoti, ovvero i pozzetti in cui non sono presenti cellule, potrebbe generare segnali di confluenza superiori al 10%. Il valore di confluenza relativo a questi pozzetti dipende dalla composizione del fondo del pozzetto. Si consiglia una valutazione separata del risultato relativo alla combinazione preferita di piastra per colture tissutali e tipo di cellule.

NOTA : I valori di confluenza sono visualizzati nell'angolo superiore sinistro delle immagini analizzate. I valori inferiori al 10% e superiori al 90% sono mostrati in rosso, mentre tutti gli altri valori sono di colore giallo. I valori di colore rosso potrebbero non essere compatibili con le curve di crescita lineare o con i dati raccolti usando un metodo alternativo.

CAUTELA : Le misurazioni di confluenza per i pozzetti non contenenti cellule potrebbero generare valori di confluenza superiori al 10%. I responsabili operativi sono tenuti a prendere in considerazione il segnale di confluenza dei pozzetti vuoti nel momento in cui si procede alla convalida del sistema.

13.5 Applicazione Cell Counting (Conta cellulare)

Tecan fornisce due applicazioni ottimizzate per

- Conta cellulare
- Calcolo della percentuale di cellule vive (viabilità)

Queste applicazioni eseguono automaticamente il calcolo dei valori relativi a concentrazione cellulare, dimensione delle cellule e percentuale di cellule vive.

13.6 Ottimizzazione delle misurazioni di conta cellulare

13.6.1 Aumento del numero di immagini

In generale, la conta cellulare e il calcolo della percentuale di cellule vive (viabilità) vengono eseguiti in volumi molto piccoli. Se la concentrazione cellulare è inferiore a $1x10^5$ cellule/ml, il numero di oggetti contati per immagine sarà basso e spesso si noterà una distribuzione irregolare delle cellule. Per migliorare il tasso di conteggio e, di conseguenza, aumentare il numero totale di cellule/ml, è possibile utilizzare le due applicazioni per conta cellulare e percentuale di cellule vive per acquisire e analizzare più immagini dello stesso campione. Selezionare un numero di immagini compreso tra 4 e 8 per ogni campione.

13.7 Ottimizzazione delle misurazioni di confluenza cellulare

13.7.1 Usare la funzionalità di rilevamento bordo del pozzetto

Per rilevare la confluenza cellulare è necessario che la piastra esegua movimenti estremamente precisi durante il trasporto e il posizionamento. Per ovviare ad eventuali problemi dovuti alle diverse dimensioni delle piastre, attivare la funzione Rilevamento bordo del pozzetto nel software. Quest'opzione consente un'analisi precisa della confluenza delle cellule aderenti al bordo del pozzetto. Se non si attiva la funzione Rilevamento bordo del pozzetto, le variazioni di contrasto nell'area del bordo del pozzetto saranno incluse nell'analisi dei dati e potranno portare a valori di confluenza falsi.



CAUTELA : Tenere presente che le misurazioni effettuate con la funzione **Rilevamento bordo del pozzetto** potrebbero richiedere più tempo.

13.7.2 Live Viewer

Per controllare le impostazioni di messa a fuoco automatica prima di dare inizio alla misurazione, è possibile avviare il **Live Viewer (visualizzatore in diretta)** dalla confluenza cellulare e dalla striscia per conta cellulare, dal menu Strumenti dell'editore di metodo o attraverso la finestra Check-and-Go nel Dashboard.

Inoltre, il **Live Viewer** è disponibile come applicazione separata utilizzabile per un rapido controllo di qualità delle colture cellulari nelle micropiastre.

Per ulteriori informazioni, consultare le istruzioni di SparkControl.



CAUTELA : La micropiastra deve sempre essere utilizzata basandosi sul metodo o sulla piastra selezionati nell'applicazione. In caso contrario potrebbero verificarsi degli errori nell'acquisizione dell'immagine.

NOTA : Il pulsante **Apply (applica)**, che consente di applicare il valore di messa a fuoco automatica, è disponibile nel Live Viewer collegato alla definizione/esecuzione del metodo, ma non nell'applicazione Live Viewer.

NOTA : In caso di modifica dell'offset di messa a fuoco nella schermata Check-and-Go/Live Viewer, questo nuovo valore sarà applicato esclusivamente alla misurazione attualmente in esecuzione e non sovrascriverà l'originale definizione del metodo.

13.8 Specifiche del modulo cellulare

NOTA : Tutte le specifiche sono soggette a modifiche senza preavviso.

13.8.1 Specifiche generali

Illuminazione	LED
Immagine	Campo chiaro
Obiettivo	4 x
Risoluzione	> 3 µm
Area/immagine	2,2 mm^2

13.8.2 Specifiche conta cellulare/percentuale di cellule vive (viabilità)

Dispositivo a perdere	Cell Chip (a marchio Tecan)
Cell Chip	2 camere per campione per ciascun cell chip
Adattatore per cell chip	4 cell chip per ciascun adattatore
Immagini multiple per ciascun campione	1, 4, 8
Dimensione cellulare	4-90 µm
Concentrazione cellulare	$1x10^4$-$1x10^7$ cellule/ml
Ripetibilità	< 10% (1 Sigma), linee cellulari HeLa e CHO
Accuratezza	± 10%, a $1x10^6$ cellule/ml, Linee cellulari HeLa e CHO

13.8.3 Tempo di misurazione

Il tempo di estrazione e reinserimento della piastra e le fasi di inizializzazione non sono conteggiati nel tempo di misurazione.

Tecnica di misurazione	Tempo di misurazione
Controllo conta cellulare/cellule vive	< 30 secondi/campione
Confluenza, 96 pozzetti, imaging dell'intero pozzetto	< 45 minuti

13.9 Controllo qualità del Modulo “conta cellulare”

13.9.1 Test di controllo qualità periodici

A seconda dell'utilizzo e dell'applicazione, si consiglia una valutazione periodica dello strumento presso un centro Tecan.

I test descritti nel capitolo successivo non sostituiscono una valutazione completa da parte del produttore o dei rivenditori autorizzati. Tuttavia, possono essere eseguiti periodicamente dall'utente per verificare aspetti significativi delle prestazioni dello strumento.

I risultati sono fortemente influenzati da errori di pipettatura e dall'impostazione dei parametri nello strumento. Per tale ragione, è fondamentale attenersi scrupolosamente alle istruzioni. L'utente deve determinare gli intervalli appropriati per questi test in base alla frequenza di utilizzo dello strumento.



CAUTELA : Prima di avviare le misurazioni, accertarsi che l’adattatore Tecan Cell Chip sia inserito correttamente. La camera A1 deve trovarsi in alto a sinistra.



AVVERTENZA : Le seguenti istruzioni descrivono la procedura di controllo qualità per verificare le specifiche dello strumento. Se i risultati di questi test di controllo non sono conformi alle specifiche dello strumento fornite nel presente manuale, contattare il centro di assistenza locale per ulteriori informazioni.

13.9.2 Accuratezza della conta cellulare

L’accuratezza è la capacità di un sistema di fornire risposte che si avvicinano a un valore reale. L’accuratezza viene calcolata come deviazione percentuale dal valore reale.

Materiale

- Sospensione cellulare, circa $1x10^6$ cellule/ml
- Cell Chip Tecan
- Adattatore Tecan per Cell Chip
- Camera di conta cellulare per conta manuale (ad es., camera di Neubauer)
- Pipetta e puntali (10 µl)

Procedura

Regolare la sospensione cellulare fino a raggiungere una concentrazione di circa $1x10^6$ cellule/ml. Eseguire la conta manuale della sospensione cellulare, ad esempio con una camera di Neubauer. Pipettare 10 µl di sospensione cellulare nelle camere di conta (A e B) di un Cell Chip Tecan e caricare il cell chip nell’adattatore (posizione 1). Avviare l’applicazione per la conta cellulare.

Parametri di misurazione

Misurazione	Applicazione Cell Counting
Posizione	A1, B1 (definire come duplicati)
Dimensione cellulare	Dipende dalla linea cellulare
Immagini	4

Valutazione

Calcolare la differenza tra concentrazione cellulare (cellule/ml) ottenuta con conta manuale e concentrazione ottenuta con conta automatica, quindi calcolare l'accuratezza come segue:

$$\text{Accuracy}\,(\%) = \frac{concentration_{manual} - concentration_{automated}}{(\text{concentration}_{\text{manual}}/100)}$$

I dati relativi all'accuratezza sono stati raccolti prendendo in considerazione linee cellulari HeLa e CHO. Linee cellulari con caratteristiche variabili potrebbero produrre dati di accuratezza diversi.

14 Imaging in fluorescenza (Cell Imager)

14.1 Imaging in campo chiaro

Il Cell Imager offre un sistema d'illuminazione in campo chiaro migliorato, in grado di catturare un intero pozzetto di una piastra a 96 pozzetti acquisendo un'unica immagine.

Il rilevamento di cellule non etichettate, che mostrano una densità ottica molto bassa e pertanto sono appena visibili, può rappresentare un grosso problema nell'imaging in campo chiaro. Il Cell Imager consente l'imaging a contrasto di fase digitale, che produce immagini molto dettagliate e ad altissimo contrasto, ottimizzate dal punto di vista della nitidezza. Se durante l'esecuzione di un metodo sono necessarie delle immagini in campo chiaro, vengono generate automaticamente delle immagini di fase e il software calcola il contrasto di fase digitale. Inoltre, il nuovo sistema di rilevamento con messa a fuoco automatica del laser basata sull'astigmatismo garantisce risultati ottimizzati in tempi più brevi. I campioni vengono illuminati dalla cima e l'acquisizione dell'immagine avviene dal fondo.

14.1.1 Ottica

Il sistema di illuminazione in campo chiaro si compone di un diodo a emissione di luce (LED) (1) e due lenti (2). Acquisendo l'immagine con messa a fuoco all'infinito si ottiene un'illuminazione omogenea, mentre l'esecuzione simultanea dell'imaging ad elevato intervallo dinamico consente di compensare eventuali effetti legati alla formazione del menisco. L'immagine della superficie del campione viene realizzata mediante un microscopio con obiettivo 2x, 4x o 10x collegato a una torretta rotante per obiettivi (3) e poi trasmessa tramite una seconda lente (tube-lens) (4) alla fotocamera (5).

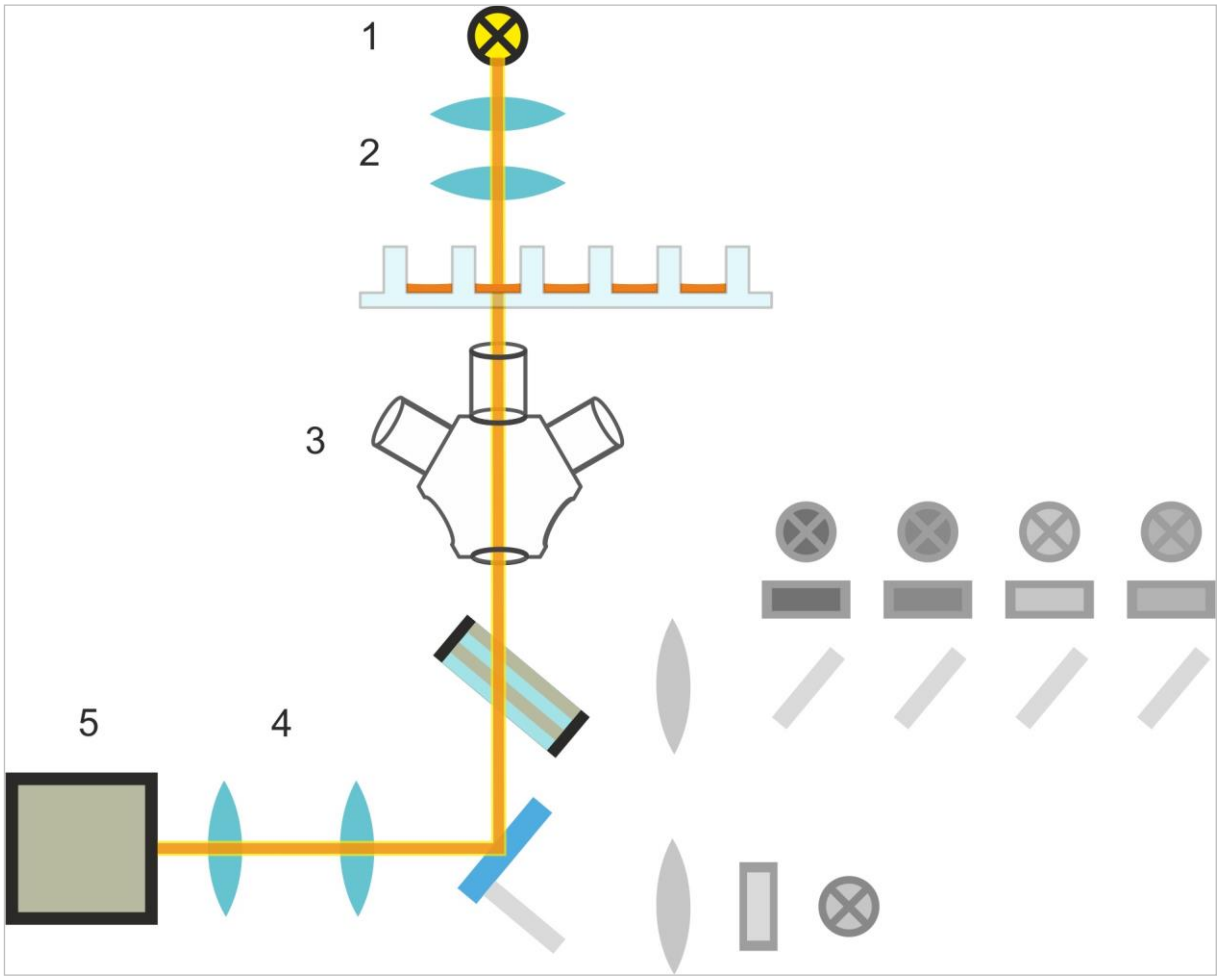


Figura 13: Rappresentazione schematica del sistema di illuminazione in campo chiaro

14.1.2 Rilevamento

Una migliorata procedura di messa a fuoco automatica basata sull'astigmatismo (vedere figura sottostante per una rappresentazione schematica del sistema di messa a fuoco automatica) consente di rilevare il contenuto della micropiastra in modo costante, affidabile e rapido.

Il LED (1) emana una luce che viene trasmessa all'obiettivo (2) e riflessa nell'immagine del campione (3). Il riflesso parziale della luce di messa a fuoco automatica sulle interfacce del campione viene catturata dallo stesso obiettivo, passa attraverso il filtro dicroico multibanda (4) e viene trasmesso tramite una seconda lente (tube-lens) (5) alla fotocamera (6). Per ciascuna misurazione, viene eseguita una scansione lungo l'asse ottico, al fine di trovare la posizione ottimale.

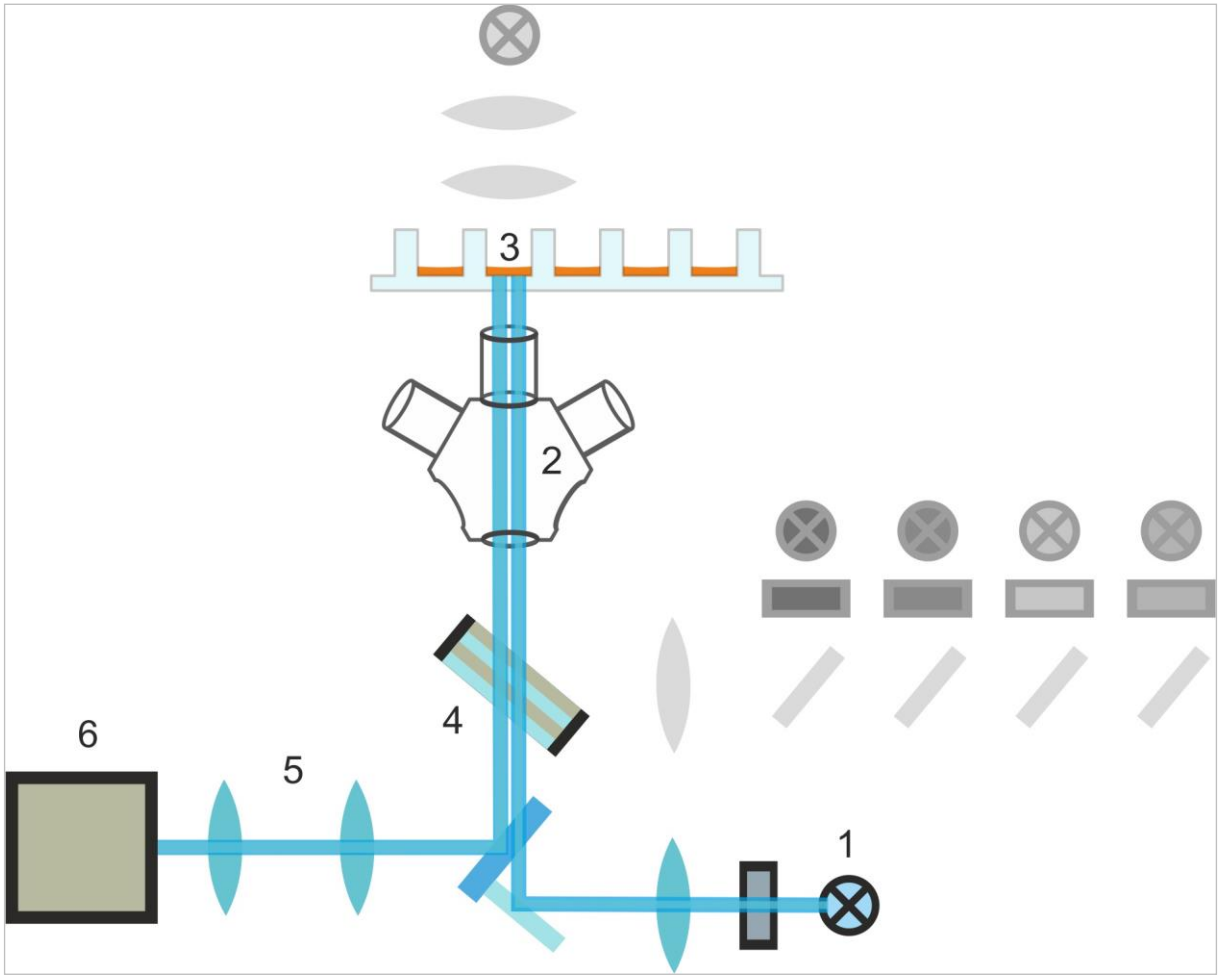


Figura 14: Rappresentazione schematica del sistema di messa a fuoco automatica

14.1.3 Applicazioni dell'imaging in campo chiaro

Si rimanda alla Guida di riferimento per una descrizione dettagliata.

NOTA : Il fattore di rugosità fornisce informazioni aggiuntive sulla consistenza cellulare in un pozzetto. Gli eventuali cambiamenti del fattore di rugosità vanno interpretati dall'utente.

14.2 Imaging in fluorescenza

Il modulo di fluorescenza utilizza quattro canali per coloranti, che corrispondono alle classi di colorante più comuni: DAPI/Hoechst, FITC, TIRTC e Cy5.

Grazie alla innovativa architettura hardware del modulo Cell Imager, i campioni vengono analizzati e le immagini in fluorescenza e in campo chiaro vengono acquisite utilizzando lo stesso sistema di messa a fuoco automatica basato sull'astigmatismo, gli stessi obiettivi e la stessa fotocamera. Tuttavia, al contrario di quanto accade con il modulo per l'imaging in campo chiaro, nell'imaging in fluorescenza i campioni vengono illuminati e rilevati dal fondo.

14.2.1 Canali di fluorescenza e caratteristiche di eccitazione ed emissione

In SparkControl è possibile selezionare quattro diversi LED con i loro rispettivi filtri di eccitazione.

La tabella sottostante fornisce informazioni relative alle lunghezze d'onda per eccitazione ed emissione fornite dal modulo per l'imaging in fluorescenza:

Canale	λ_{ex}	λ_{em}
Blu	381 - 400 nm	414 - 450 nm
Verde	461 - 487 nm	500 - 530 nm
Rosso	543 - 566 nm	580 - 611 nm
Rosso lontano	626 - 644 nm	661 - 800 nm

I tempi di esposizione e l'offset della messa a fuoco automatica possono essere ottimizzati utilizzando la modalità microscopio dello SparkControl, il Live Viewer.

14.2.2 Acquisizione dell'immagine

Se eccitato alla lunghezza d'onda appropriata, il campione (1) emette un segnale di fluorescenza che viene fatto passare nuovamente attraverso il filtro dicroico multibanda (2) e trasmesso tramite una seconda lente (tube-lens) (3) alla fotocamera (4).

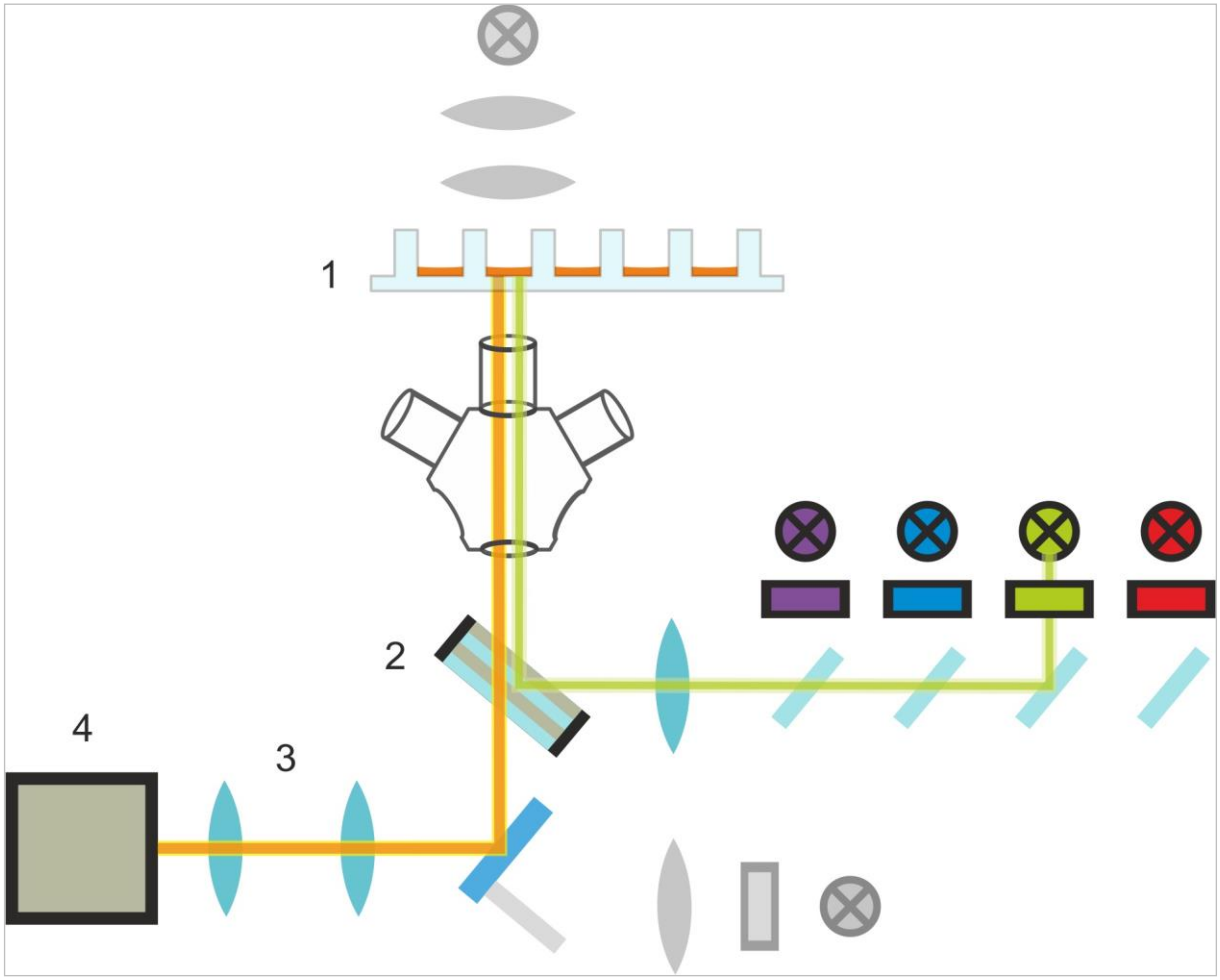


Figura 15: Rappresentazione schematica del sistema di illuminazione in fluorescenza

14.3 Specifiche del Cell Imager

14.3.1 Generale

Fotocamera	Sony IMX264 chip CMOS, 2456 x 2054 pixel (=5 megapixel), dimensione pixel 3.45 µm
Illuminazione	LED campo chiaro, quattro diverse gamme (LED + filtro di eccitazione) di lunghezze d'onda per eccitazione ed emissione per imaging in fluorescenza
Immagine	Campo chiaro a campo largo, contrasto di fase digitale e fluorescenza a campo largo
Formati piastra supportati	Piastre a 6, 12, 24, 48, 96 e 384 pozzetti

14.3.2 Obiettivi

La tabella sottostante riassume le proprietà ottiche dei vari obiettivi Olympus selezionabili:

Obiettivo	**2x**	**4x**	**10x**
Apertura numerica	0,08	0,13	0,30
Risoluzione pixel	3,45 µm	1,72 µm	0,69 µm
Risoluzione ottica	4,50 µm	2,77 µm	1,20 µm
Campo visivo	8,47 mm x 7,09 mm	4,24 mm x 3,54 mm	1,69 mm x 1,42 mm

14.3.3 Set di filtri a multibanda completi

Un set di filtri a multibanda completo prodotto da Semrock, composto da un filtro dicroico a multibanda completo (FF409/493/573/652-Di01) e da un set di filtri specifici per l'emissione (FF01-432/515/595/730-25) è l'ideale per le classi di colorante Hoechst, FITC, GFP, TRITC e Cy5.

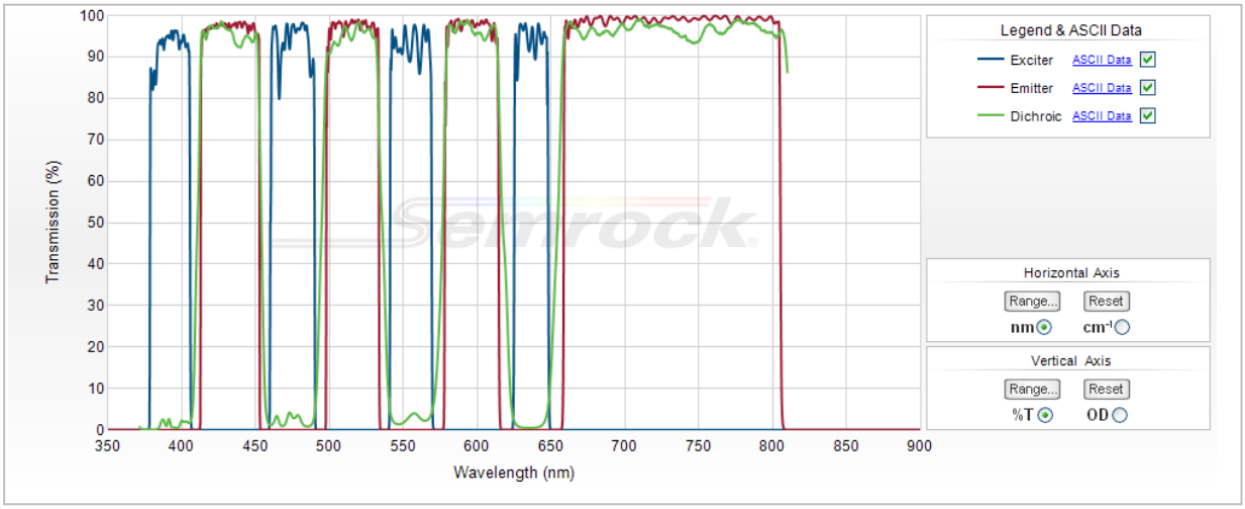


Figura 16: Profilo di trasmissione del set di filtri a multibanda completo, immagine T incorporata (ottenuta dal sito web ufficiale di Semrock: www.semrock.com.

14.3.4 Tempi di misurazione

Acquisizione dell'immagine	**Tempo di misurazione specificato**
96 pozzetti, imaging pozzetto intero in campo chiaro e a contrasto di fase digitale, obiettivo 2x	≤ 12 min
96 pozzetti, centro, campo chiaro, contrasto di fase digitale e un canale di fluorescenza, obiettivo 10x, tempo di esposizione preimpostato	≤ 15 min
Acquisizione e analisi delle immagini per Applicazioni Standard	**Tempo di misurazione specificato**
Confluenza, 96 pozzetti, pozzetto intero, obiettivo 2x, campione entro intervallo di confluenza del 60-80%	≤ 20 min (incl. analisi)
Conta nucleare, 384 pozzetti, pozzetto intero, obiettivo 4x, campione entro intervallo di confluenza del 60-80%, acquisizione ottimizzata e impostazioni di analisi	≤ 45 min (incl. analisi)
Viabilità, 24 pozzetti, centro, obiettivo 10x, campione entro intervallo di confluenza del 60-80%, acquisizione ottimizzata e impostazioni di analisi	≤ 10 min (incl. analisi)

14.4 Applicazioni Standard

Il Cell Imager supporta un'ampia gamma di applicazioni nell'ambito della citofluorimetria basata sull'imaging. Per i dettagli, consultare la Guida di riferimento. Per i dettagli sulla definizione dell'analisi dell'immagine, consultare le istruzioni dei Plugin di analisi.

NOTA : Per evitare l'appannamento dei coperchi e il rischio di ottenere risultati incerti, utilizzare il controllo della temperatura SPARK per regolare la temperatura ambiente della micropiastra sui valori pre-misurazione.

NOTA : Le concentrazioni di colorante fluorescente specificate sono orientative e devono essere ottimizzate dall'utente in base alle diverse linee cellulari.

NOTA : Per ogni applicazione, si raccomanda un tempo di incubazione di 30 minuti, in modo da ottenere segnali di fluorescenza ottimali dalle cellule trattate. Inoltre, i tempi di incubazione devono essere ottimizzati in base alle diverse line cellulari.

NOTA : Assicurarsi che i campioni vengano analizzati in un ambiente buio, in quanto i coloranti fluorescenti sono soggetti a fotoscolorimento.

NOTA : Se l'obiettivo 2x è usato in combinazione con l'applicazione Confluenza in una piastra con formato da 96 pozzetti, si raccomanda un volume di riempimento uguale o superiore a 200 µl. In caso contrario potrebbero formarsi degli indesiderati artefatti circolari nel menisco.

NOTA : Per l'analisi della confluenza cellulare nell'intero pozzetto, è raccomandato un offset del bordo pari a 150 µm.

NOTA : Se si utilizza l'obiettivo 2x in combinazione con la conta cellulare in un'immagine in campo chiaro, si potrebbe osservare un rilevamento ridotto delle cellule nell'area del bordo del pozzetto a causa della minore visibilità delle cellule in quell'area. Per ulteriori informazioni, consultare la Guida di riferimento.

NOTA : Il basso contrasto delle cellule non colorate è uno dei principali ostacoli alla conta cellulare in campo chiaro. È possibile ottenere risultati migliori utilizzando piastre di imaging dedicate.

NOTA : Le condizioni sperimentali come il mezzo (composizione, volume/pozzetto), i valori di offset dell'autofocus, gli artefatti del fondo della piastra possono avere un impatto sull'immagine in campo chiaro e quindi sulla segmentazione delle cellule. Per ottenere i migliori risultati, utilizzare le impostazioni sperimentali e di acquisizione ottimali.

14.5 Definizione delle misurazioni effettuate con tecniche di imaging in campo chiaro e in fluorescenza

Per gli strumenti con modulo Cell Imager, il software SparkControl è in grado di fornire una singola striscia di rilevamento che può essere usata per le misurazioni basate su imaging in campo chiaro e/o in fluorescenza.

La disponibilità della striscia dipende dalla configurazione dello strumento collegato. Per ulteriori informazioni, consultare le istruzioni di SparkControl.



CAUTELA : Evitare di lavorare in parallelo con SparkControl e ImageAnalyzer, in modo da garantire una prestazione ottimale del software SparkControl.



CAUTELA : Non collegare o scollegare dispositivi USB (ad es. chiavetta USB, SSD esterni, ecc.) durante una misurazione effettuata con la tecnica dell'imaging in fluorescenza.



CAUTELA : Per ottenere misurazioni in campo chiaro e in fluorescenza di buona qualità, è essenziale selezionare il file di definizione piastra corretto. Lavorare sempre con piastre che corrispondono al file di definizione piastra selezionato nella striscia Piastra. Se una piastra per imaging non rientra nei File di Definizione Piastra (.pdfx) forniti insieme allo strumento, utilizzare Plate Geometry Editor per definire un file pdfx definito dall'utente o contattare Tecan.



NOTA : La conta cellulare e il calcolo della percentuale di cellule vive (viabilità) nei cell chip basati sull'illuminazione in campo chiaro non sono supportati dal modulo Cell Imager.



NOTA : Il bounding box è un'area rettangolare all'interno di un pozzetto, in cui è possibile selezionare manualmente un numero massimo di 25 posizioni di imaging. L'intervallo di selezione cambia in modo dinamico, a seconda delle posizioni selezionate. Per selezionare delle posizioni al di fuori dell'intervallo di selezione evidenziato, è necessario deselezionare alcune delle posizioni di imaging già selezionate.



NOTA : Se il modello **Intero pozzetto** non è disponibile per l'obiettivo correntemente in uso, selezionare un obiettivo con risoluzione più bassa, che produrrà un'area più ampia per ogni immagine.



NOTA : Non è possibile combinare i canali **rosso lontano** e **rosso** in un'unica applicazione.



NOTA : Se il **Tempo di esposizione** o l'**Intensità del LED** sono impostati su valori troppo alti, i campioni potrebbero essere soggetti a fotoscolorimento e le immagini potrebbero risultare troppo chiare o troppo scure.

CAUTELA : Se è stato definito un offset di messa a fuoco, controllare sempre il valore mediante il Live Viewer. Se durante la misurazione l'offset di messa a fuoco non rientra in un intervallo valido, i pozzetti corrispondenti saranno contrassegnati da un errore di messa a fuoco automatica. In questo caso, regolare nuovamente il valore dell'offset di messa a fuoco definito.

NOTA : Quando si esegue l'imaging 3D in micropiastre a forma di U, il campo di scansione dell'autofocus (principalmente dell'obiettivo 2x) può superare il campo dello strumento supportato. L'immagine viene acquisita, ma la qualità dell'immagine potrebbe essere compromessa. In questi casi, si consiglia di utilizzare l'obiettivo 4x.

NOTA : L'acquisizione dell'immagine comprendente l'analisi dei dati in tempo reale richiede tempi di misurazione più lunghi. Se il tempo a disposizione è limitato, eseguire l'analisi dell'immagine in seguito, utilizzando ImageAnalyzer.

NOTA : Per una prestazione ottimale del sistema, utilizzare il drive C:. Per le misurazioni cinetiche di imaging in fluorescenza a lungo termine, si raccomanda di usare il disco DATADRIVE per la sua maggiore capacità.

NOTA : L'accrescimento dei valori di sensibilità comporta un aumento dei tempi di misurazione (consultare le istruzioni dei Plugin di analisi).

NOTA : Quando si effettua una misurazione cinetica, gli intervalli di tempo tra le marche temporali registrate potrebbero differire leggermente a causa dell'aumento della dimensione della base di dati e del variare della quantità di memoria utilizzata. Questo effetto può essere ridotto al minimo:

- definendo tempi di intervallo sufficientemente lunghi
- riducendo il numero di immagini per pozzetto
- lavorando con i valori di sensibilità predefiniti
- rimandando l'analisi dei dati
- assicurandosi che ci sia sufficiente memoria disponibile (ovvero evitando di eseguire più programmi in parallelo durante lo svolgimento delle misurazioni e assicurandosi di riavviare il PC dopo una misurazione molto lunga ed estesa).

NOTA : Nel rapporto generato in PDF sono riportati, ove applicabile, istogrammi e mappe di calore. Questi non sono inclusi nel corrispondente file Excel.

NOTA : Una misurazione multi- etichettatura con imaging 2D può contenere al massimo quattro strisce di imaging 2D. Una misurazione multi-etichetta con imaging 3D può contenere al massimo una striscia di imaging 3D. Non è possibile combinare le immagini 2D e 3D in un metodo.

NOTA : Se il metodo prevede la selezione di più canali di imaging all'interno di una striscia per imaging, l'acquisizione dell'immagine corrispondente viene eseguita sempre in relazione al singolo pozzetto.

14.6 Ottimizzazione delle misurazioni effettuate con la tecnica dell'imaging in fluorescenza

14.6.1 Live Viewer

Il Live Viewer fornisce un'immagine delle cellule in tempo reale. Se si usa il Live Viewer per la definizione del metodo o prima dell'esecuzione del metodo, le impostazioni ottimizzate relative all'acquisizione dell'immagine possono essere applicate automaticamente al metodo corrispondente. Consultare le istruzioni di SparkControl per maggiori informazioni.

Si noti che il Live Viewer include un'opzione che consente di potenziare il contrasto per le immagini a colori a singolo canale. Quando si utilizza questa opzione (Contrast+), il software mostra un'immagine con contrasto potenziato. Questa immagine può rivelare oggetti con un segnale debole, che nell'immagine originale potrebbero avere un contrasto minore ma sono comunque inclusi nel processo di analisi dell'immagine.



CAUTELA : Utilizzare sempre la micropiastra in base alla definizione del metodo o alla selezione del formato della piastra nell'applicazione Live Viewer, altrimenti l'acquisizione delle immagini potrebbe causare errori.



CAUTELA : Se è stato definito un offset di messa a fuoco, controllare sempre il valore mediante il Live Viewer. Se durante la misurazione l'offset di messa a fuoco non rientra in un intervallo valido, i pozzetti corrispondenti saranno contrassegnati da un errore di messa a fuoco automatica. In questo caso, regolare nuovamente il valore dell'offset di messa a fuoco definito.



NOTA : L'opzione contrasto potenziato è disponibile solo nella vista Live Viewer per immagini a singolo canale.



NOTA : Quando si lavora in modalità Impostazioni acquisizione con l'elaborazione digitale dell'immagine attivata nelle Impostazioni di elaborazione, la visualizzazione dell'immagine corrispondente può essere commutata tra l'immagine elaborata digitalmente e quella non elaborata digitalmente, rispettivamente.



NOTA : Il pulsante **Apply** (applica), che ha la funzione di trasferire le impostazioni di acquisizione modificate nelle impostazioni di acquisizione del metodo, è disponibile solo nel Live Viewer collegato alla definizione/esecuzione del metodo, ma non nell'applicazione Live Viewer.



NOTA : In caso di modifica delle impostazioni di acquisizione nella schermata Check-and-Go/Live Viewer, questi nuovi valori saranno applicati esclusivamente alla misurazione attualmente in esecuzione e non sovrascriveranno l'originale definizione del metodo.



NOTA : Quando si acquisisce un'immagine con più canali, è necessario regolare le impostazioni di acquisizione per ciascun canale e in seguito effettuare la correzione dei fenomeni di cross-talk.



NOTA : In caso di utilizzo di più canali di colorante, si raccomanda vivamente di eseguire la correzione degli effetti di cross-talk mediante il Live Viewer.

NOTA : Per la correzione degli effetti di cross-talk è necessario utilizzare solo pozzetti di controllo con un unico fluoroforo.

NOTA : La correzione degli effetti di cross-talk è fortemente influenzata dal grado di intensità del LED e dal tempo di esposizione. In caso di modifica di questi due fattori, è sempre necessario ripetere la correzione degli effetti di cross-talk.

NOTA : È possibile correggere esclusivamente il cross-talk che si verifica nella fase di eccitazione. I coloranti con un ampio spettro di eccitazione devono essere corretti in tutti i canali sottostanti. Lo ioduro di propidio, ad esempio, potrebbe essere visibile nei canali blu e verde, oltre che nel proprio specifico canale rosso; pertanto, è necessario effettuare una correzione del cross-talk nei canali blu e verde, selezionando un pozzetto di riferimento colorato esclusivamente con ioduro di propidio.

CAUTELA : Se i valori di correzione percentuali sono troppo elevati, può verificarsi un'ipercorrezione del rispettivo canale. Le parti ipercorrette dell'immagine vengono raffigurate in bianco. Per evitare l'ipercorrezione, ridurre il corrispondente valore di correzione.

NOTA : La regione di interesse ("region of interest" ROI) viene applicata a tutti i canali di misura solo per l'analisi delle immagini. La ROI non influisce sul modello di imaging definito nella corrispondente striscia di imaging 3D.

NOTA : Per definire le impostazioni di elaborazione digitale dell'immagine per un metodo di imaging a fluorescenza sottostante, utilizzare la scheda **Elaborazione** o l'impostazione corrispondente nella striscia **Elaborazione immagine**.

L'attivazione e la disattivazione dell'icona dell'elaborazione digitale dell'immagine nell'area grafica dell'immagine non ha alcun impatto sulle impostazioni dell'elaborazione digitale dell'immagine nel metodo stesso. Esse offrono solo la possibilità di un rapido controllo visivo.

CAUTELA : Nell'imaging 3D, l'attivazione dell'elaborazione digitale dell'immagine potrebbe causare un'ipercorrezione degli oggetti estesi (ad esempio, sferoidi e organoidi).

14.6.2 ImageAnalyzer

CAUTELA : Evitare di lavorare in parallelo con ImageAnalyzer e SparkControl, in modo da garantire una prestazione ottimale del software ImageAnalyzer.

Il software ImageAnalyzer viene utilizzato per aprire le immagini, impostare i parametri di analisi delle immagini e valutarne il contenuto dopo l'esecuzione di un metodo. L'ImageAnalyzer opera mediante **workspace** (spazi di lavoro) che vengono creati da SparkControl in seguito a una misurazione effettuata con tecniche di imaging.

Workspace

Aprire l'ImageAnalyzer e selezionare un **workspace** con cui lavorare. Se non è possibile trovare un workspace seguendo il percorso predefinito

(C:¥Users¥Public¥Documents¥Tecan¥SparkControl¥Workspaces), andare in **File/Directory** e definire un nuovo percorso predefinito.

Dopo l'apertura di un workspace, il software visualizza l'immagine corrispondente e i dati relativi all'analisi dell'immagine, se disponibili. Questi dati fanno sempre riferimento al pozzetto e al canale selezionati e, nel caso di una misurazione cinetica, al ciclo cinetico selezionato.

Struttura

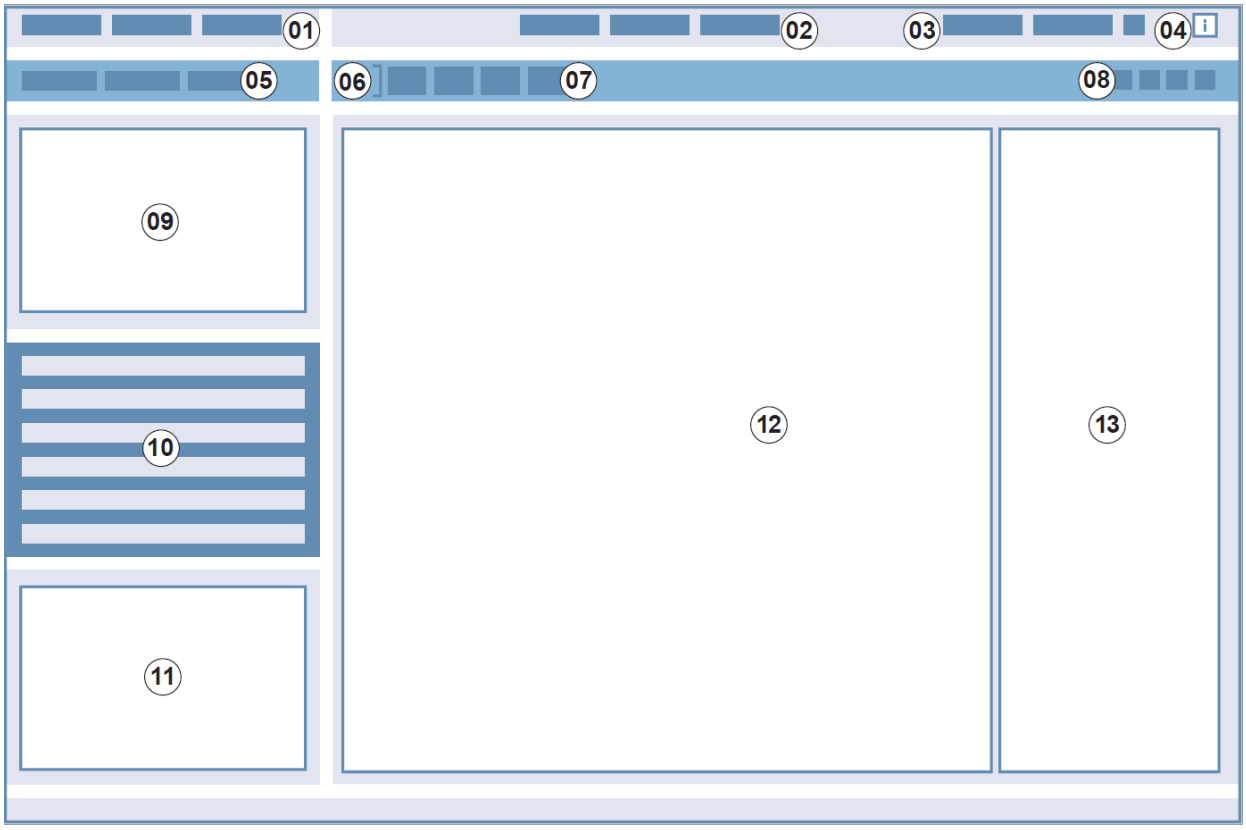


Figura 17: Elementi strutturali della GUI di ImageAnalyzer
01 Barra dei menu; 02 Schede per la definizione dei metodi; 03 Barra degli strumenti; 04 Pulsante del riquadro informazioni; 05 Elenchi a discesa; 06 Pozzetto selezionato; 07 Composizione dinamica dell'immagine; 08 Barra degli strumenti sensibile al contesto;
09 – 12 Area risultato; 13 Schermo divisivo

Barra dei menu	**01**	Contiene un menu a discesa di funzioni dell'editor (File, Vista e Help)
Schede per la definizione dei metodi	**02**	Passare alla misurazione (modalità di visualizzazione), all'elaborazione e all'analisi (modalità di modifica) delle immagini e dei risultati dell'analisi
Barra degli strumenti	**03**	Contiene le icone delle funzioni dell'editor comunemente utilizzate
Pulsante del riquadro informazioni	**04**	Apre il riquadro informazioni e mostra le informazioni rilevanti per la sequenza di lavoro corrente
Elenchi a discesa	**05**	Selezionare ad esempio etichetta, sottoetichetta, ciclo cinetico, numero della piastra per la visualizzazione nell'area Risultati
Pozzetto selezionato	**06**	Mostra il pozzetto selezionato e, se esteso, fornisce le informazioni relative alle impostazioni del metodo (fotocamera e analisi salvata)

Composizione dinamica dell'immagine	**07**	Include icone relative ai canali per la generazione di immagini composte definite dall'utente
Barra degli strumenti sensibile al contesto	**08**	Contiene icone per la regolazione dell'immagine e l'area di analisi (ad esempio, regione di interesse (ROI), video time-lapse, luminosità e contrasto, contorno della maschera)
Area risultato	**09** **10** **11** **12**	Include l'**Immagine/le immagini** per pozzetto selezionato e i risultati dell'analisi visualizzati in una vista **Piastra**, **Elenco** e **Grafico**. Comprende un'area centrale ingrandita e tre aree di dimensioni ridotte.
Schermo divisivo	**13**	Apre una schermata per definire/modificare le impostazioni di elaborazione/analisi

Per ulteriori informazioni, consultare le istruzioni di SparkControl.

NOTA : Il ricalcolo dei dati può essere cancellato solo nel caso in cui la modifica venga applicata alla piastra. Dopo la cancellazione, i pozzetti che sono già stati ricalcolati conterranno i nuovi dati di ricalcolo, mentre i dati degli altri pozzetti rimarranno invariati.

NOTA : Se si agisce sulla regione di interesse ("region of interest" ROI) utilizzando la funzione Anteprima, i risultati mostrati nell'anteprima riguarderanno esclusivamente la ROI selezionata all'interno dell'immagine del pozzetto prescelto.

NOTA : I dati ricalcolati vengono salvati automaticamente selezionando **Applica a pozzetto/Applica a piastra/Applica a tutte le piastre**. La funzione **Anteprima** prevede soltanto il ricalcolo dei dati, non il salvataggio.

NOTA : La correzione dell'effetto di cross-talk influisce sul contenuto dell'immagine e va effettuata prima di modificare le impostazioni relative all'analisi e/o al gating.

NOTA : Per la correzione degli effetti di cross-talk è necessario utilizzare solo pozzetti di controllo con un unico fluoroforo.

CAUTELA : Se i valori di correzione percentuali sono troppo elevati, può verificarsi un'ipercorrezione del rispettivo canale. Le parti ipercorrette dell'immagine vengono raffigurate in bianco. Per evitare l'ipercorrezione, ridurre il corrispondente valore di correzione.

NOTA : In ImageAnalyzer, i "gate" (limitazioni) possono avere due stati: inattivo (linea continua, nessun gate impostato) e attivo (linea tratteggiata, gate in corso). Si prega di considerare questi stati quando si applicano i gate al pozzetto e/o alla/e piastra/e.

NOTA : Per esportare e salvare le immagini generate dalla composizione dinamica delle immagini, utilizzare la funzione Salva immagine. La funzione Esporta risultato esporta solo i risultati dell'analisi.

14.6.3 Plugin di analisi

Per ulteriori informazioni, consultare le istruzioni del Plugin di analisi corrispondente.

NOTA : Per l'analisi del conteggio con il canale Campo chiaro, Sensibilità, Lunghezza e larghezza dell'oggetto non sono disponibili.

NOTA : Si raccomanda di impostare la sensibilità su valori superiori a quelli predefiniti solo in caso di segnali di fluorescenza deboli. L'algoritmo dipende dall'intensità del segnale; se la sensibilità è impostata su valori troppo alti, il rumore di fondo risulterà accresciuto e ciò potrebbe comportare il rilevamento di artefatti.

NOTA : L'algoritmo mostra un comportamento non lineare nell'intervallo predefinito. A seconda del numero di oggetti, dell'intensità del segnale e del contrasto, potrebbe rendersi necessario utilizzare differenti impostazioni di sensibilità entro un unico workspace.

NOTA : L'aumento dei valori di sensibilità comporta, rispettivamente, un aumento dei tempi di misurazione e di rianalisi. In ImageAnalyzer, valori di sensibilità superiori ai valori predefiniti possono produrre un notevole impatto sul tempo di ricalcolo nel caso in cui i workspace contengano immagini multiple per ogni pozzetto.

NOTA : L'analisi 3D si basa su un algoritmo di apprendimento profondo, il cui addestramento per gli sferoidi è stato eseguito su quattro linee cellulari selezionate (HeLa, A549, MCF-7 e MDA-MB-231). Sono stati addestrati sferoidi singoli e sferoidi multipli cresciuti con e senza matrice (Matrigel) per consentire di ottenere i migliori risultati possibili per queste linee cellulari e altre simili. L'addestramento con organoidi è stato condotto per identificare in particolare gli organoidi di colon, polmone e fegato.

CAUTELA : SPARK CYTO supporta l'imaging 3D con piastre specializzate per la generazione di un gran numero di sferoidi/organoidi uniformi (ad esempio, AggreWell™ Microwell Plates STEMCELL technologies, Corning® Elplasia® Plates). Tuttavia, quando si utilizza uno di questi formati di piastra per l'imaging 3D, la qualità dei risultati dell'analisi non è garantita.

15 Impilatore per micropiastre Spark-Stack

Spark-Stack è un modulo impilatore per micropiastre integrato, disponibile in via opzionale per il lettore multifunzione SPARK. È progettato per consentire di caricare, scaricare e rimpilare automaticamente fino a 50 piastre prive di coperchio per ciascun ciclo di misurazione, avvalendosi di un sistema di automazione walk-away.



Figura 18: Impilatore per micropiastre incorporato Spark-Stack, per caricare, scaricare e rimpilare automaticamente fino a 50 piastre per ciascun ciclo di misurazione.

Il modulo impilatore per micropiastre integrato è dotato di caricatori per piastre (pile) che fungono da contenitori di stoccaggio. I caricatori sono compatibili con piastre senza coperchio contenenti da 6 a 1536 pozzetti e sono dotati di coperchi utili per proteggere i campioni sensibili dalla luce.

Le micropiastre presenti nel caricatore posto nella posizione INPUT del modulo Spark-Stack vengono caricate nel lettore SPARK una dopo l'altra. Una volta terminata la misurazione, le piastre analizzate vengono raccolte nel caricatore posto nella posizione OUTPUT.

I morsetti a molla situati nei caricatori sono progettati per rimanere chiusi in caso di interruzione dell'alimentazione elettrica, in modo che le piastre rimangano in posizione all'interno dei caricatori nonostante la mancanza di corrente.

I caricatori per piastre sono disponibili in due diverse altezze:

due pile corte, che possono accogliere fino a 30 piastre (standard a 96 pozzetti) per ogni misurazione;

due pile lunghe, che possono accogliere fino a 50 piastre (standard a 96 pozzetti) per ogni misurazione.

15.1 Accesso al pannello frontale

Rimuovendo i caricatori per piastre dal modulo impilatore, l'operatore ha pieno accesso al pannello frontale del lettore multifunzione SPARK e può:

- sostituire gli specchi dicroici
- sostituire le slitte dei filtri
- caricare manualmente una singola piastra sul vano porta-piastre del lettore SPARK
- caricare manualmente la piastra MultiCheck-QC SPARK per eseguire verifiche IQ/OQ

15.1.1 Pulsanti di controllo integrati nello strumento



Se non sono presenti caricatori per piastre sullo Spark-Stack, tutti i pulsanti di controllo integrati sono attivi. Per ulteriori informazioni, consultare il capitolo 2.6 Pulsanti di controllo integrati nello strumento.

Quando sullo Spark-Stack è installato un caricatore per piastre, rimane attiva solo la funzione Stop del pulsante Start  presente sullo strumento. Tutti gli altri pulsanti di controllo integrati nello strumento sono inattivi. Se si preme il pulsante Start sullo strumento durante una misurazione con impilatore, la misurazione verrà interrotta al completamento dell'operazione in corso.



CAUTELA : Quando si interrompe una misurazione con impilatore premendo il pulsante Start sullo strumento, può capitare che una micropiastra rimanga nel lettore. Assicurarsi di rimuovere la micropiastra dal lettore prima di avviare una nuova misurazione con impilatore.



CAUTELA : In caso di interruzione dell'alimentazione elettrica, prima di avviare una nuova misurazione con impilatore assicurarsi di rimuovere la micropiastra dal lettore e tutte le piastre analizzate dal caricatore posto in posizione OUTPUT.

15.1.2 Protezione dalla luce per campioni sensibili/coperchi scuri

L'impilatore per micropiastre Spark-Stack include un kit di coperchi a tenuta di luce (1 frontali e 1 superiore), che possono essere posizionati rapidamente sui caricatori di piastre.

Questi elementi proteggono dalle luci del laboratorio le micropiastre contenenti sostanze sensibili alla luce, come ad esempio cellule trasfettate con GFP e piastre per campioni AlphaScreen, AlphaLISA, AlphaPlex, ecc.

		
1. Porre il coperchio frontale sulle strisce magnetiche del caricatore per piastre.	2. Far scorrere il coperchio frontale verso il basso fino a fine corsa.	3. Collocare il coperchio superiore sul caricatore per piastre.

15.2 Requisiti delle micropiastre per lo Spark-Stack

Tutte le micropiastre standard (senza coperchio) con formato da 6 a 1536 pozzetti conformi alle norme ANSI/SLAS possono essere usate per eseguire misurazioni con impilatore mediante il modulo Spark-Stack.

AVVERTENZA : Non usare micropiastre con coperchio nel modulo Spark-Stack.

AVVERTENZA : Non usare Humidity Cassette nel modulo Spark-Stack.

Specifiche Spark-Stack

Parametri	Caratteristiche
Micropiastre (senza coperchio)	con formato da 6 a 1536 pozzetti conformi alle norme ANSI/SLAS
Tempo di rimpilamento	15 secondi per piastra (micropiastra da 96 pozzetti senza Smooth mode)

Dimensioni delle micropiastre

Parametri	Caratteristiche
Altezza totale della piastra	Da 10 a 23 mm
Ingombro	Lunghezza = 127,76 mm ± 0,5 mm Larghezza = 85,48 mm ± 0,5 mm
Differenza minima tra altezza della piastra e altezza del bordo	≥ 6,7 mm

AVVERTENZA : Non toccare la parte interna del caricatore INPUT o OUTPUT durante una misurazione con impilatore.

AVVERTENZA : Non inserire o rimuovere le piastre manualmente durante una misurazione con impilatore.

Micropiastre con codice a barre

Le micropiastre con codice a barre per l'identificazione dell'ID piastra sono particolarmente utili per le misurazioni cinetiche con impilatore.
Per la lettura dei codici a barre, è necessario che il lettore per micropiastre SPARK sia dotato del modulo lettore di codici a barre opzionale integrato.

Per ulteriori informazioni, consultare il capitolo 2.5.2 Micropiastre con codice a barre).

Analisi automatica di cell chip con il modulo Spark-Stack

I caricatori per piastre dello Spark-Stack sono compatibili con l'adattatore per cell chip del lettore SPARK, ciò consente il caricamento automatico dell'adattatore contenente i cell chip tramite il modulo impilatore Spark -Stack.

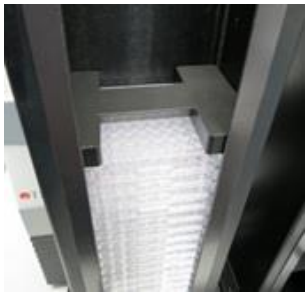
Per ulteriori informazioni, consultare il capitolo 19 Conta cellulare in cell chip.

Pesi stabilizzatori

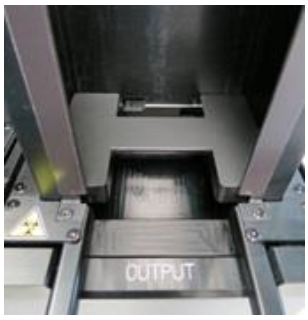
L'impilatore viene fornito completo di due pesi stabilizzatori a forma di H (uno per ciascun caricatore di piastre). Questi elementi esercitano una pressione sulle micropiastre per mantenerle in posizione, consentendo così il corretto impilamento.

NOTA : I sensori per piastre presenti nei caricatori sono in grado di riconoscere i pesi stabilizzatori, per cui i pesi non vanno caricati nel lettore SPARK e non è necessario rimuoverli al momento del rimpilamento. Assicurarsi che il peso stabilizzatore si trovi sempre in cima alla pila di piastre presente all'interno del caricatore.

1. Porre un peso stabilizzatore sulle piastre presenti nel caricatore INPUT (la sezione centrale è cuneiforme. La parte più larga del cuneo deve essere rivolta verso l'alto per facilitare la presa).



2. Porre un peso stabilizzatore sul fondo del caricatore OUTPUT.



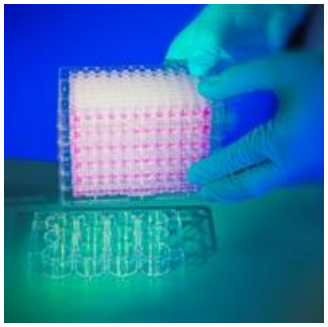
3. Lo Spark-Stack è ora pronto per l'utilizzo.



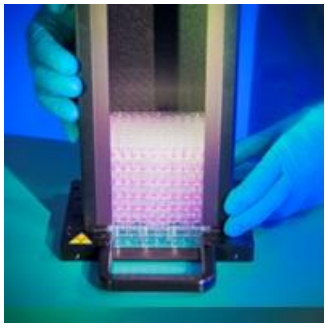
15.2.1 Caricamento di un gruppo di micropiastre nel caricatore per piastre

Utilizzando come piattaforma per l'impilamento una micropiastra standard da 6, 12 o 24 pozzetti, due micropiastre a 96 pozzetti oppure una piastra standard deepwell o half-deepwell, è possibile caricare nel caricatore dello Spark-Stack varie micropiastre tutte insieme.

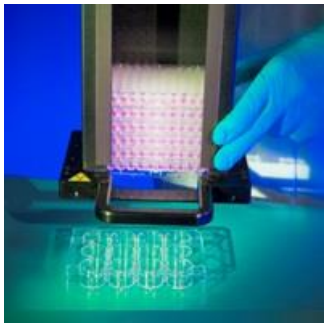
1. Preparare la quantità totale di micropiastre che vanno caricate nel caricatore per essere sottoposte a una misurazione con impilatore.
2. Collocare parte delle micropiastre sulla piattaforma. Nell'esempio sottostante viene usata come piattaforma una piastra standard da 12 pozzetti. Assicurarsi che le micropiastre siano dello stesso tipo e colore e che il pozzetto **A1** si trovi nell'angolo superiore sinistro (più vicino all'etichetta **A1** posta nell'angolo posteriore sinistro del caricatore).



3. Posizionare il caricatore per piastre sopra alla pila di micropiastre e farlo scorrere verso il basso, fin quando non entra in contatto con la superficie del banco.



4. Sollevare il caricatore per piastre. La pila di micropiastre è stata aggiunta al caricatore. La piastra che funge da piattaforma rimane sul banco.



Caricare le rimanenti micropiastre seguendo questa stessa procedura.



CAUTELA : Assicurarsi che le micropiastre non siano inserite capovolte.



CAUTELA : Assicurarsi che tutte le micropiastre siano inserite in modo tale che l'etichetta **A1** sia rivolta verso l'angolo superiore sinistro.



CAUTELA : Indossare sempre dei guanti prima di inserire manualmente le micropiastre nel caricatore. La presenza di impronte o macchie sulla superficie ottica (inferiore) della micropiastra può compromettere la capacità di misurazione del lettore.



CAUTELA : Usare esclusivamente piastre compatibili. Piastre flessibili e non lisce, come le piastre per PCR, non sono adatte all'uso con questo dispositivo.



CAUTELA: Non usare micropiastre che presentano danni di qualsiasi tipo.



CAUTELA : Non usare micropiastre con coperchio nel modulo Spark-Stack durante le misurazioni con impilatore.



CAUTELA : Nel caso in cui la pellicola/lamina sigillante venga rimossa dalle micropiastre prima della misurazione: assicurarsi che la parte superiore delle micropiastre non risulti appiccicosa a causa di residui di adesivo, in caso contrario le piastre potrebbero attaccarsi tra loro e rendere difficile il loro recupero dal caricatore per piastre.

Inoltre, accertarsi che le micropiastre siano lisce e non si siano piegate durante il processo di sigillatura.



NOTA : Nel caso di misurazioni cinetiche con impilatore che richiedono tempi lunghi, all'atto di caricare le micropiastre nel caricatore è opportuno collocare una piastra vuota in corrispondenza della prima e dell'ultima posizione (in cima e in fondo alla pila di piastre da analizzare). In questo modo è possibile ridurre al minimo l'evaporazione.



NOTA : La condensazione potrebbe influenzare la qualità delle misurazioni. Per evitare/ridurre al minimo gli effetti della condensa sulla lamina sigillante e/o sul fondo della piastra,

- lavorare in una stanza a temperatura controllata,
- portare le piastre a temperatura ambiente,
- centrifugare le piastre con lamina sigillante,
- utilizzare l'opzione di riscaldamento di SPARK e definire le sequenze di lavoro di misurazione con l'incubazione delle piastre prima di misurare ogni piastra.

15.2.2 Caricamento di una singola micropiastra nel caricatore per piastre

Prima di caricare una singola micropiastra nel caricatore per piastre, è necessario verificare che:

- Il pozzetto **A1** presente sulla micropiastra sia più vicino all'adesivo **A1** posto nell'angolo posteriore sinistro del caricatore,
- la micropiastra non sia capovolta, il tipo e colore corrispondano alla Definizione piastra impostata nel metodo e, ovviamente,
- che la micropiastra non sia danneggiata.



CAUTELA : Indossare sempre dei guanti prima di inserire manualmente le micropiastre nel caricatore. La presenza di impronte o macchie sulla superficie ottica (inferiore) della micropiastra può compromettere la capacità di misurazione del lettore.



1. Inserire manualmente la micropiastra nella parte superiore del caricatore per piastre e farla scorrere delicatamente verso il basso fino a posarla sul fondo dell'impilatore.



2. Rilasciare la micropiastra sul fondo del caricatore con la massima attenzione.

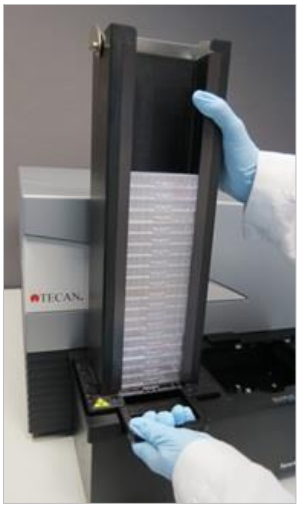
15.2.3 Caricamento dei caricatori sul modulo Spark-Stack

Sollevare i caricatori per piastre usando le maniglie poste sul fondo, come mostrato nella figura sottostante.

Collocare il caricatore al di sopra della posizione corrispondente sul modulo Spark-Stack e spingerlo dritta verso il basso.

1. Caricare il caricatore contenente le micropiastre nella posizione contrassegnata con la dicitura INPUT.

2. Premere il caricatore verso il basso con decisione, fin quando non scatta in posizione.



3. Caricare il caricatore vuoto nella posizione contrassegnata con la dicitura OUTPUT.



CAUTELA : Nel caso in cui un caricatore non sia stato inserito correttamente sul modulo Spark-Stack, il pulsante **Avvio** dell'impilatore risulterà disabilitato. In questo caso, premere il caricatore verso il basso e farlo scattare in posizione. Quindi avviare la misurazione con impilatore.

CAUTELA : Se il caricatore OUTPUT non è vuoto, all'avvio della misurazione comparirà un messaggio di errore. In questo caso, togliere le piastre dal caricatore OUTPUT e riavviare la misurazione nel software.

CAUTELA : Se è rimasta una piastra sul vano porta-piastre del lettore SPARK, all'avvio della misurazione comparirà un messaggio di errore. In questo caso, rimuovere i caricatori dal modulo Spark-Stack. Estrarre il vano porta-piastre dal lettore SPARK e rimuovere la micropiastra, quindi reinserire il vano porta-piastre vuoto nel lettore. Caricare nuovamente il caricatore sul modulo Spark-Stack e riavviare la misurazione con impilatore.

CAUTELA : Non aggiungere altre micropiastre nel caricatore INPUT mentre è in corso la misurazione.

15.2.4 Inserimento delle micropiastre direttamente nel lettore SPARK

Rimuovendo entrambi i caricatori dal modulo Spark-Stack è possibile eseguire la misurazione di singole piastre utilizzando **micropiastre** standard, oppure piastre MultiCheck SPARK o NanoQuant.



AVVERTENZA : Prima di inserire una micropiastra, estrarre il porta-piastre. Porre la micropiastra direttamente sul porta-piastre del lettore SPARK. Non collocare piastre sul sollevatore dell'impilatore quando è visibile l'etichetta **No micropiastre**, la quale indica che il porta-piastre si trova ancora all'interno del lettore. In caso contrario, il porta-piastre urterà contro la piastra nel momento in cui verrà estratto dal lettore.

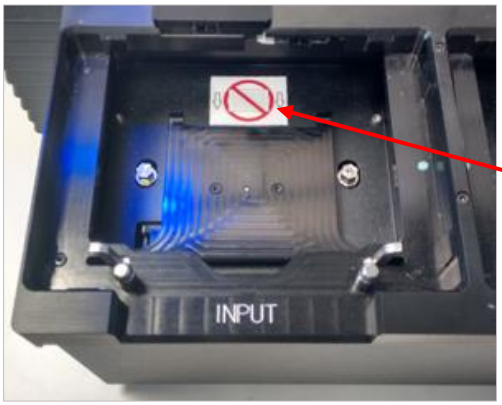
Se ciò accade, premere il pulsante Start/Stop sullo strumento  o il pulsante di stop nel software.

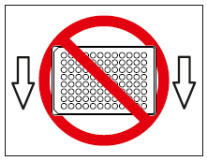


AVVERTENZA : Trattare il materiale a rischio biologico in conformità con le norme e gli standard di sicurezza applicabili.

Caricamento manuale di una singola piastra:

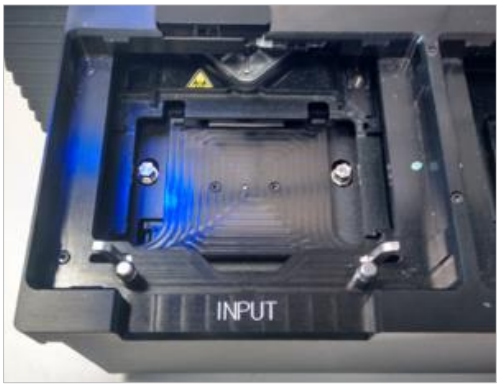
1. Se, all'atto di caricare manualmente una singola piastra, l'etichetta **No micropiastre** è visibile, ciò indica che il vano porta-piastre si trova ancora all'interno del lettore. Non inserire la micropiastra se l'etichetta è visibile!



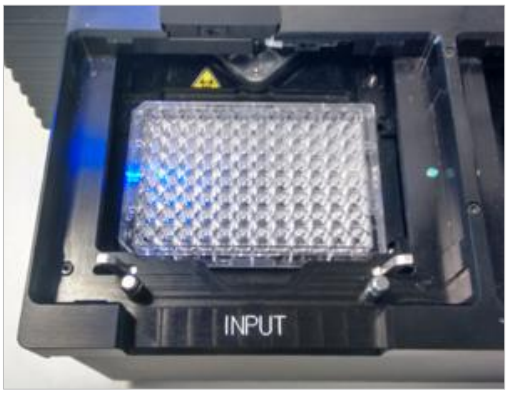


Etichetta **No micropiastre**

2. Prima di inserire una micropiastra, estrarre il porta-piastre. L'etichetta **No micropiastre** non è visibile quando il vano porta-piastre viene estratto.



3. Collocare la micropiastra al centro del porta-piastre. Assicurarsi che l'etichetta **A1** presente sulla micropiastra si trovi nell'angolo superiore sinistro. Porre sempre la micropiastra sul porta-piastre, mai direttamente sul sollevatore dell'impilatore.



15.2.5 Scaricare singolarmente le micropiastre analizzate



CAUTELA : Indossare sempre dei guanti prima di scaricare le micropiastre dal caricatore.

1. Rimuovere delicatamente il caricatore dal modulo Spark-Stack, evitando di inclinarlo. Appoggiare il caricatore sul banco da lavoro.



2. Prestando la massima attenzione, afferrare la micropiastra posta in cima alla pila presente all'interno del caricatore.



3. Far scorrere delicatamente la micropiastra verso la sommità del caricatore, quindi rimuoverla.
   Evitare fuoriuscite di liquido.

4. Eliminare la piastra in base alle procedure di laboratorio.

15.2.6 Scaricare un gruppo di micropiastre analizzate

CAUTELA : Indossare sempre dei guanti prima di scaricare le micropiastre dal caricatore.

1. Rimuovere delicatamente il caricatore dal modulo Spark-Stack, evitando di inclinarlo.
2. Appoggiare il caricatore sul banco da lavoro.



3. Far scivolare delicatamente una mano sotto alla micropiastra posta sul fondo del caricatore e usare l'altra mano per afferrare saldamente il gruppo di micropiastre da scaricare.



4. Far scorrere delicatamente il gruppo di micropiastre verso la sommità del caricatore, quindi rimuoverle.
   Evitare fuoriuscite di liquido.

5. Eliminare le micropiastre in base alle procedure di laboratorio.

15.2.7 Pulizia e manutenzione dello Spark-Stack

Fuoriuscite di liquidi



AVVERTENZA : Spegnere sempre lo strumento prima di rimuovere qualsiasi tipo di fuoriuscita sull'impilatore. Tutte le fuoriuscite devono essere trattate come potenzialmente infettive. Attenersi sempre alle precauzioni di sicurezza applicabili (ovvero indossare guanti privi di polvere, occhiali e indumenti protettivi) per evitare la potenziale contaminazione di malattie infettive.

Inoltre, tutti i rifiuti derivanti dalla procedura di pulizia devono essere trattati come potenzialmente infettivi ed è necessario eseguirne lo smaltimento attenendosi alle istruzioni fornite nel capitolo 7.5 Smaltimento.

Procedura di pulizia e disinfezione (incluse fuoriuscite di liquidi)

Qui di seguito illustriamo la procedura per pulire e disinfettare lo Spark-Stack, anche in caso di fuoriuscita di liquidi all'interno del caricatore per piastre o sul modulo Spark-Stack.

1. Indossare guanti, occhiali e indumenti protettivi.
2. Preparare un contenitore adatto per tutti gli elementi a perdere utilizzati durante la procedura di disinfezione.
3. Spegnere il lettore SPARK, in modo da arrestare lo strumento e il modulo Spark-Stack integrato.
4. Rimuovere i caricatori per piastre.
5. Rimuovere le micropiastre dal caricatore oppure la micropiastra dal sollevatore del modulo Spark-Stack.
6. Asciugare immediatamente eventuali fuoriuscite con materiale assorbente.
7. Pulire le superfici dei caricatori e il modulo Spark-Stack.
8. In caso di fuoriuscite di liquidi a rischio biologico, pulire accuratamente tutte le superfici esterne dello strumento con un panno di carta privo di lanugine imbevuto di soluzione disinfettante (B33 [Orochemie, Germania] o etanolo al 70%)
9. Asciugare le aree sottoposte a pulizia.
10. Smaltire il materiale contaminato in modo appropriato.

Manutenzione preventiva

Il modulo Spark-Stack non richiede alcuna particolare procedura di manutenzione preventiva. Per ulteriori informazioni, consultare il capitolo 7 Pulizia e manutenzione.

15.3 Software

Se lo Spark-Stack è collegato al software SparkControl, il metodo SparkControl preimpostato verrà eseguito per ciascuna delle piastre inserite nel caricatore INPUT.



CAUTELA : Non usare micropiastre con coperchio con il modulo Spark-Stack.



NOTA : Gli strumenti SPARK con modulo Spark-Stack installato non supportano le Humidity cassette. Selezionare l'opzione 'No humidity cassette' se applicabile al campione in oggetto.



NOTA : Lo Spark-Stack non supporta la misurazione cinetica aperta.



NOTA : Nelle misurazioni con impilatore, non sono supportate le funzioni di ottimizzazione della posizione Z tramite la finestra Posizione Z, il Live Viewer e le operazioni Gas, Richiesta Utente e Inserisci/Estrai Piastra.



NOTA : Nelle misurazioni con impilatore, le applicazioni Tecan non sono supportate.



NOTA : Non è possibile mettere in pausa una misurazione cinetica eseguita con impilatore.



NOTA : Una misurazione con impilatore non può essere avviata mediante il pulsante Start presente sullo strumento.



NOTA : È possibile conservare le impostazioni relative alla temperatura solo se la piastra si trova all'interno dello strumento e non nei caricatori INPUT/OUTPUT.

15.3.1 Avvio della misurazione con impilatore

Una volta che si è proceduto a definire un metodo, è possibile avviare l'elaborazione batch dall'editor di metodo selezionando il **pulsante Avvio impilatore** nella barra degli strumenti o dal dashboard. Per fare ciò, basta selezionare il corrispondente riquadro **Metodo e** fare clic sul **riquadro Avvio impilatore** nella finestra Check-and-Go (controlla e vai) del dashboard. Accertarsi che il caricatore OUTPUT dello Spark-Stack sia vuoto prima di avviare una misurazione con impilatore.



NOTA : Quando i caricatori INPUT e OUTPUT sono inseriti, nell'editor di metodo compaiono il pulsante **Avvio impilatore** abilitato e il pulsante **Start** disabilitato. Rimuovere i caricatori INPUT e OUTPUT per eseguire una misurazione senza impilatore.



CAUTELA : Assicurarsi che la micropiastra corrisponda alla Definizione piastra impostata nel metodo, al fine di evitare eventuali problemi durante le misurazioni con impilatore. Usare sempre micropiastre dello stesso tipo e colore.

Finestra Operazioni dell'impilatore

All'avvio di una misurazione con impilatore, compare la finestra Operazioni dell'impilatore:

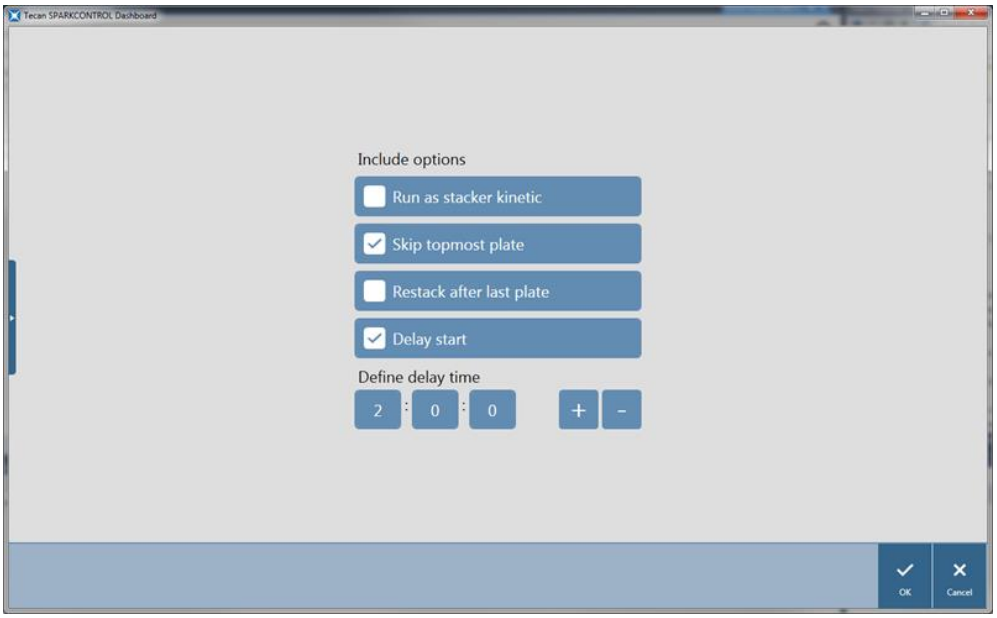


Figura 19: finestra Operazioni dell'impilatore

Esegui come misurazione cinetica con impilatore	Se selezionato, un metodo definito come misurazione cinetica sarà eseguito come misurazione con impilatore. Per ulteriori informazioni consultare il capitolo 15.3.2 Misurazioni cinetiche con impilatore.
Salta piastra in cima alla pila	Selezionare **Salta piastra in cima alla pila** per escludere dalle misurazioni la prima piastra della pila. La piastra in cima alla pila sarà trasportata direttamente attraverso il lettore SPARK, senza misurazione, al magazzino di uscita.
Rimpila dopo l'ultima piastra	Selezionare **Rimpila dopo l'ultima piastra** per ripristinare la sequenza originale delle piastre nel caricatore al termine dell'analisi.
Ritarda avvio	Stabilire un tempo di ritardo per l'avvio della misurazione con impilatore. L'inizio della misurazione con impilatore sarà messa in pausa per il tempo di ritardo stabilito.
Numero di piastre	Per controllare lo spazio libero sul disco, inserire il numero di piastre utilizzate per la misurazione (solo per imaging in campo chiaro e in fluorescenza).

NOTA. : Avvio ritardato della misurazione con impilatore: questa funzione può essere usata per consentire l'incubazione delle micropiastre a temperatura ambiente, prima che venga avviata la misurazione con impilatore. È disponibile un kit di coperchi scuri da utilizzare con i caricatori di piastre, per proteggere i campioni sensibili alla luce.

15.3.2 Misurazioni cinetiche con impilatore

A differenza delle misurazioni cinetiche su un'unica piastra, le misurazioni cinetiche con impilatore consentono di analizzare più piastre in base a criteri temporali. Al termine del ciclo 1, durante il quale vengono analizzate tutte le piastre presenti nel caricatore INPUT, le suddette piastre vengono automaticamente rimpilate nella sequenza originale e analizzate nuovamente fino al completamento di un numero di cicli definito dall'utente.

Per agevolare la valutazione dei dati, viene generata una scheda dei risultati per ciascuna piastra, la quale viene nominata facendo riferimento al numero o al codice a barre della piastra stessa (se presente e selezionato nel metodo). I risultati dei cicli successivi vengono automaticamente aggiunti alla corrispondente scheda dei risultati.

Le misurazioni cinetiche con impilatore possono essere eseguite con qualsiasi script di misurazione cinetica relativo alle piastre e possono essere combinate con tutte le condizioni cinetiche disponibili, fino a un massimo di 300 cicli.

Per effettuare una misurazione cinetica con impilatore, la sequenza di lavoro o il metodo vanno impostati secondo l'usuale procedura propria delle misurazioni cinetiche e avviati mediante il pulsante **Avvio impilatore**. La finestra **Operazioni dell'impilatore** si apre per consentire l'accesso alle funzioni supplementari specifiche per le misurazioni con impilatore. Se si seleziona l'opzione **Esegui misurazione cinetica con impilatore**, lo script verrà eseguito automaticamente come misurazione cinetica con impilatore.

NOTA : Le misurazioni cinetiche relative a una piastra eseguite con una sola striscia cinetica per un massimo di 300 cicli possono essere effettuate come misurazioni cinetiche con impilatore.

NOTA : Solo le misurazioni cinetiche associate a un loop del tipo **Numero di cicli** possono essere eseguite come misurazioni cinetiche con impilatore.

NOTA : Le operazioni **Attesa** e **Agitazione** sono disponibili per le misurazioni cinetiche con impilatore, ma NON sono supportate le opzioni **Attesa continua** e **Agitazione continua**, in quanto una piastra analizzata singolarmente non rimane nello strumento tra due cicli cinetici consequenziali.

NOTA : L'imaging in fluorescenza non è supportato durante misurazioni cinetiche con impilatore.

15.3.3 Rimpilamento

La funzione di rimpilamento del software SparkControl consente di rimpilare le piastre senza eseguire alcuna misurazione. L'operazione di rimpilamento può essere avviata dal menu Strumenti dell'editor di metodo, oppure tramite la finestra Controllo strumento o la finestra Check-and-Go del dashboard semplicemente premendo il pulsante **Impilatore**.

Prima di procedere al rimpilamento, definire il formato delle piastre inserite nel caricatore OUTPUT. Utilizzare la modalità **Smooth mode** facendo riferimento al formato delle piastre o al volume di riempimento (consultare il capitolo 2.5.1 Volumi di riempimento/modalità Smooth mode). La modalità **Smooth mode** è consigliata quando si effettuano misurazioni su micropiastre con peso ridotto, come ad esempio le micropiastre da 1536 pozzetti.

16 Iniettori

Il modulo iniettore è costituito da una o due siringhe contenute all'interno di unità esterne dotate di coperchi a tenuta di luce. Sono disponibili vari volumi di siringhe: 500 µl, 1000 µl e 2500 µl.Gli aghi degli iniettori sono progettati per distribuire liquido nei pozzetti di micropiastre conformi alle norme SBS e contenenti da 1 a 384 pozzetti (ad eccezione delle piastre a 384 pozzetti a basso volume).

CAUTELA : Spegnere lo strumento prima di collegare o scollegare il modulo iniettore.

16.1 Supporto iniettori

Il supporto iniettori può essere facilmente rimosso (dal cliente) dallo strumento per svolgere operazioni come il priming e il risciacquo dell'iniettore o l'ottimizzazione della velocità di iniezione.

Quando l'iniettore viene utilizzato durante una procedura di misurazione, il supporto iniettori deve essere inserito correttamente nello strumento. Rimuovere l'iniettore dummy e inserire il supporto iniettori nell'alloggiamento dell'iniettore. Premere delicatamente il supporto iniettori nell'alloggiamento per bloccarlo in posizione.

Lo strumento è dotato di un sensore iniettore che controlla la posizione del supporto iniettori. Se l'iniettore non viene installato in modo corretto nello strumento, il sensore non riconoscerà il supporto iniettori inserito e l'iniezione sarà disabilitata; tuttavia, sarà possibile svolgere operazioni come il priming e il risciacquo. Eseguire procedure di priming o di risciacquo con un supporto iniettori inserito in modo non corretto può danneggiare lo strumento. Pertanto, assicurarsi sempre che il supporto iniettori sia in posizione di manutenzione prima di eseguire procedure di priming e di risciacquo (vedere la figura sottostante).

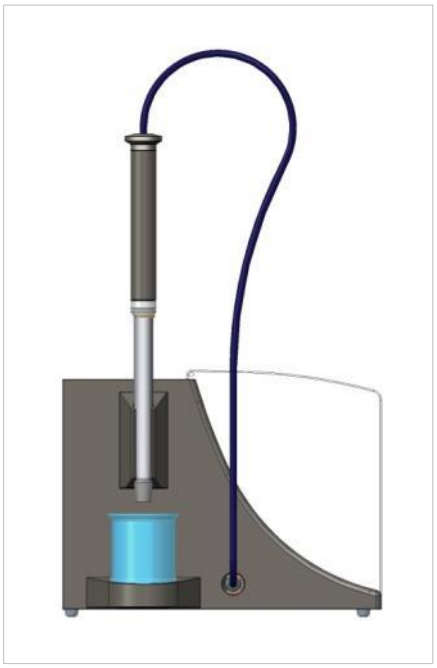


Figura 20: Supporto iniettori in posizione di manutenzione



CAUTELA : Non toccare mai le siringhe durante il funzionamento.



CAUTELA : Il supporto iniettori deve essere in posizione di manutenzione per eseguire le procedure di priming e di risciacquo. Non eseguire procedure di priming o di risciacquo se l'iniettore è inserito nello strumento. Eseguire procedure di priming o di risciacquo con un supporto iniettori inserito in modo non corretto può danneggiare lo strumento.



CAUTELA : Il supporto iniettori deve essere inserito correttamente nell'alloggiamento dell'iniettore, altrimenti l'iniettore non verrà rilevato e le funzioni di priming e di risciacquo rimarranno abilitate. Eseguire procedure di priming o di risciacquo con un supporto iniettori inserito in modo non corretto può danneggiare lo strumento.

La velocità di iniezione può essere regolata tramite il software. La velocità di iniezione ottimale dipende dalle caratteristiche dell'analisi, come il formato della piastra, nonché la viscosità e il comportamento dei liquidi durante la misurazione. Il supporto iniettori rimovibile consente di ottimizzare questo processo esternamente allo strumento, in una posizione in cui è più facile eseguire un'ispezione visiva.

16.1.1 Iniettore dummy

Tutti gli strumenti dotati di alloggiamenti per iniettori (strumenti con iniettori o strumenti con predisposizione per gli iniettori) vengono forniti con iniettori dummy. L'iniettore dummy sostituisce l'iniettore vero e proprio quando quest'ultimo non è in uso. In questo caso, l'iniettore dummy assicura che l'atmosfera all'interno dello strumento rimanga stabile (temperatura, concentrazione di gas).

Reinserire sempre l'iniettore dummy nell'alloggiamento dell'iniettore dopo aver rimosso il supporto iniettori. Premere delicatamente l'iniettore dummy nell'alloggiamento per bloccarlo in posizione e chiudere il coperchio. L'iniettore dummy attiva il sensore iniettore solo se è correttamente posizionato nell'alloggiamento dell'iniettore.



CAUTELA : Assicurarsi che l'iniettore dummy sia inserito nell'alloggiamento dell'iniettore ogni volta che quest'ultimo non è in uso.



CAUTELA : Tenere presente che, se correttamente inserito nell'alloggiamento dell'iniettore, l'iniettore dummy attiva anche il sensore iniettore. È possibile eseguire fasi di iniezione anche con l'iniettore dummy inserito, tuttavia i risultati non saranno utilizzabili.

16.2 Priming e risciacquo

CAUTELA : Il supporto iniettori deve essere in posizione di manutenzione per eseguire le procedure di priming e di risciacquo. Le procedure di priming e di risciacquo non devono essere eseguite quando il supporto iniettori è nell'alloggiamento dell'iniettore.

La fase di riempimento iniziale (priming) e la fase di pulizia (risciacquo) del sistema iniettore devono essere eseguite esternamente all'alloggiamento dell'iniettore. Per queste procedure, il supporto iniettori viene rimosso dallo strumento e messo in posizione di manutenzione nel modulo iniettore. Per le fasi di priming e di risciacquo del sistema iniettore, viene fornita un'impostazione predefinita per la velocità di iniezione e il volume di distribuzione. Se necessario, è possibile modificare i parametri di priming nella finestra Controllo iniettore del software.

Il volume di priming dipende dalla lunghezza del tubo. Sono disponibili due tipi di tubi per l'iniettore: **corto** = 100 cm (39,37 in.) e **lungo** = 200 cm (78,74 in.).

Il volume di priming minimo è di 1.000 µl per gli iniettori con tubo corto e di 1.500 µl per gli iniettori con tubo lungo.

CAUTELA : Volumi di priming troppo bassi potrebbero causare un riempimento incompleto del sistema, influenzando negativamente le prestazioni del test.

CAUTELA : Non toccare gli aghi dell'iniettore! Potrebbero facilmente piegarsi o disallinearsi, causando problemi di iniezione o danni allo strumento.

NOTA : Le impostazioni selezionate per il priming possono essere salvate nei pulsanti presenti sulla scatola iniettori scegliendo l'opzione **Salva come predefinito**. Questa funzione è disponibile solo tramite l'editor di metodo. Per avviare la procedura di priming, premere il pulsante **Priming** sulla scatola iniettori.

Per ulteriori informazioni, consultare la Guida di riferimento.

16.2.1 Backflush dei reagenti

Prima della pulizia del sistema iniettore, il backflush dei reagenti consente di ripompare i reagenti residui presenti nel sistema dei liquidi (aghi iniettore, siringhe, valvole e tubi) nei flaconi di stoccaggio. Questa procedura rappresenta una soluzione economicamente vantaggiosa per ridurre al minimo il consumo di reagente. Il volume morto del sistema di iniezione è di circa 100 µl.

Per ulteriori informazioni, consultare la Guida di riferimento.

AVVERTENZA : Il supporto iniettori va tenuto solo mediante l'apposita maniglia.

CAUTELA : L'iniettore deve essere in posizione di manutenzione per eseguire il **backflush**. Non eseguire il **backflush** quando l'iniettore è nello strumento.

NOTA : Le impostazioni selezionate per il risciacquo possono essere salvate nei pulsanti presenti sulla scatola iniettori scegliendo l'opzione **Salva come predefinito**. Questa funzione è disponibile solo tramite l'editor di metodo. Per avviare la procedura di risciacquo, premere il pulsante **Risciacquo** sulla scatola iniettori.



CAUTELA : Il supporto iniettori deve essere in posizione di manutenzione per eseguire il **risciacquo**. Non eseguire il **risciacquo** quando l'iniettore è nello strumento.



CAUTELA : Assicurarsi di eseguire una procedura di risciacquo finale con acqua distillata.



CAUTELA : Gli iniettori vanno trattati con cura! In caso di danni, l'accuratezza della distribuzione potrebbe essere compromessa, con conseguenti danni allo strumento.

16.3 Pulizia e manutenzione dell'iniettore

La manutenzione necessaria potrebbe variare in funzione dell'applicazione. Per garantire prestazioni ottimali e la massima durata del sistema iniettore, si consiglia di attenersi alle procedure riportate di seguito.



CAUTELA : Per evitare la miscelazione e la contaminazione crociata dei reagenti, risciacquare accuratamente l'intero sistema iniettore ogni volta che si utilizza un'applicazione che richiede l'uso di iniettori.

Manutenzione giornaliera

Se non diversamente specificato dal produttore del kit in uso, le seguenti operazioni vanno eseguite quotidianamente:

- ispezionare le siringhe e i tubi per escludere la presenza di perdite
- lavare accuratamente l'intero sistema con acqua distillata o deionizzata dopo ogni utilizzo e quando la siringa non è in uso La mancata osservanza di tali indicazioni può causare la cristallizzazione dei reagenti. I cristalli, a loro volta, possono danneggiare la guarnizione della siringa e il tappo della valvola e causare così fuoriuscite di liquido.



CAUTELA : Non lasciare che le siringhe funzionino a secco per più di alcuni cicli.

Manutenzione settimanale/periodica

Il sistema iniettore (tubi, siringhe, aghi di iniezione) deve essere pulito con cadenza settimanale per rimuovere precipitati, come i sali, ed eliminare la crescita batterica.

Per pulire il sistema siringa/iniettore con alcol etilico (EtOH) al 70%, attenersi alla seguente procedura:

1. A seconda dell'applicazione dell'utente, lavare accuratamente il sistema con buffer o acqua distillata prima di risciacquare con EtOH al 70%.
2. Risciacquare le siringhe completamente abbassate con EtOH al 70% per 30 minuti.
3. Al termine dei 30 minuti, pompare tutto il liquido fuori dalla siringa e dal tubo svuotandolo in un contenitore per rifiuti.
4. Risciacquare il sistema siringa/iniettore con EtOH al 70%.
5. Risciacquare il sistema siringa/iniettore con acqua distillata o deionizzata. Lasciare il percorso dei liquidi riempito per lo stoccaggio.
6. Pulire accuratamente l'estremità degli aghi dell'iniettore con un tampone di cotone imbevuto di alcol etilico al 70% o isopropanolo.



AVVERTENZA : Rischio di incendi ed esplosione!

L'alcol etilico è infiammabile e, se maneggiato impropriamente, può provocare esplosioni.
Seguire le adeguate precauzioni relative alla sicurezza di laboratorio.



CAUTELA : Le siringhe devono essere sostituite esclusivamente da tecnici del servizio assistenza. In caso contrario, non garantiamo il corretto funzionamento dello strumento.

16.4 Iniettore compatibilità con i reagenti

Il sistema iniettore è costituito dai seguenti materiali:

- PTFE, TFE, FEP: tubo, tappo della valvola, guarnizione
- PEEK: testa dell'ago, accoppiatore tubo/iniettore
- KelF: corpo della valvola
- Rivestimento in parilene: aghi iniettore

Per la compatibilità con i reagenti, consultare l'elenco riportato di seguito. La lettera **A** indica una buona compatibilità con il sistema iniettore. Le sostanze chimiche classificate con la lettera **D** non devono essere utilizzate con il sistema iniettore in quanto causano gravi danni.

Sostanze chimiche classificate con la lettera A	Sostanze chimiche classificate con la lettera D
Acido acetico < 60%	Acetonitrile
Dimetileformamide	Butilammina
Etanolo	Cloroformio
Metanolo (alcol metilico)	Tetracloruro di carbonio (secco)
Acqua, deionizzata	Etere dietilico
Acqua, distillata	Etanolammina
Acqua, fresca	Etilendiammina
Idrossido di potassio (potassa caustica)	Furfurolo
Ipoclorito di potassio (acquoso)	Esano
Idrossido di sodio (< 60%, acquoso)	Acido fluoridrico
Ipoclorito di sodio	Monoetanolammina
	Acido solforico (diluito o concentrato)
	Tetraidrofurano



CAUTELA : Per il sistema iniettore, utilizzare esclusivamente reagenti classificati con la lettera **A**. Non utilizzare reagenti classificati con la lettera D per il sistema iniettore.

Le informazioni contenute in questa tabella sono fornite da Tecan Austria conformemente alle informazioni sulla compatibilità dei materiali e costituiscono solo una linea guida generale per la selezione di reagenti compatibili.

AVVERTENZA : Le sostanze chimiche approvate devono essere conservate e maneggiate in modo appropriato. Fattori ambientali quali temperatura, pressione e concentrazione possono causare reazioni chimiche indesiderate, con conseguente danneggiamento dello strumento.

AVVERTENZA : Tenere presente che un uso non corretto delle sostanze chimiche può causare lesioni gravi. In tali circostanze, si raccomanda di seguire sempre le buone pratiche di laboratorio e di indossare i dispositivi di protezione.

16.5 Esecuzione di misurazioni con iniettori

Gli iniettori possono essere utilizzati da soli o in abbinamento alle seguenti modalità di rilevamento: lettura dell'intensità di fluorescenza Cima e Fondo, fluorescenza a risoluzione temporale, polarizzazione di fluorescenza, assorbanza, luminescenza nonché luminescenza multicolore. Tuttavia, poiché la posizione di misurazione non coincide con la posizione di iniezione, viene rispettato un breve ritardo (circa < 0,5 s) tra l'iniezione e la lettura. Per eccezioni, consultare il capitolo 12.6 Inject and Read (Iniettare e Leggere).

Per ulteriori informazioni, consultare le istruzioni di SparkControl.

CAUTELA : Assicurarsi che il file di definizione piastra selezionato corrisponda alla micropiastra effettivamente in uso, per evitare eventuali danni allo strumento.

16.6 Riscaldatore e agitatore magnetico

Il modulo iniettore può essere equipaggiato anche con un riscaldatore e agitatore magnetico opzionale.

Per ulteriori informazioni, consultare la Guida di riferimento.

NOTA : La temperatura selezionata corrisponde alla temperatura della superficie della piastra riscaldante. La temperatura della soluzione di iniezione nel contenitore deve essere esplicitamente controllata dall'utente.

CAUTELA : Se il riscaldamento è attivato, assicurarsi che il modulo di base e di espansione abbiano la stessa temperatura.

16.6.1 Pallone da laboratorio e barra di agitazione magnetica

La piastra riscaldante è progettata per contenere un pallone da laboratorio fino a 100 ml di volume. Il kit standard per ogni modulo riscaldatore e agitatore magnetico è costituito da un pallone da laboratorio da 100 ml e da una barra di agitazione magnetica appropriata.

16.7 Specifiche dell'iniettore

NOTA : Tutte le specifiche sono soggette a modifiche senza preavviso.

16.7.1 Specifiche tecniche dell’iniettore

Parametri	Caratteristiche
Tipi di piastre	Piastre con formato da 1 a 384 pozzetti
Volumi siringa dell’iniettore	500 µl, 1000 µl, 2500 µl

16.7.2 Specifiche prestazionali dell’iniettore

Siringa da 500 µl

Volume d’iniezione	Accuratezza	Precisione
10 µl	≤ 10 %	≤ 10 %
100 µl	≤ 1 %	≤ 1 %
450 µl	≤ 0.5 %	≤ 0.5 %

Siringa da 1000 µl

Volume d’iniezione	Accuratezza	Precisione
20 µl	≤ 10 %	≤ 10 %
200 µl	≤ 1 %	≤ 1 %
900 µl	≤ 0.5 %	≤ 0.5 %

Siringa da 2500 µl

Volume d’iniezione	Accuratezza	Precisione
50 µl	≤ 10 %	≤ 10 %
500 µl	≤ 1 %	≤ 1 %
2250 µl	≤ 0.5 %	≤ 0.5 %

16.7.3 Specifiche del riscaldatore/ agitatore

Parametri	Caratteristiche
Alimentazione elettrica	24 V, max. 60 Watt, presa esterna
Regolazione della temperatura	20-42 ° C
Regolazione della velocità di agitazione	50-1000 giri/min

16.8 Controllo qualità del modulo iniettore

16.8.1 Test di controllo qualità periodici

A seconda dell'utilizzo e dell'applicazione, si consiglia una valutazione periodica dello strumento presso un centro Tecan.

I test descritti nei successivi capitoli non sostituiscono una valutazione completa da parte del produttore o dei rivenditori autorizzati. Tuttavia, questi test possono essere eseguiti periodicamente dall'utente per verificare alcuni aspetti significativi legati alle prestazioni dello strumento.

I risultati sono fortemente influenzati da errori di pipettatura e dall'impostazione dei parametri nello strumento. Per tale ragione, è fondamentale attenersi scrupolosamente alle istruzioni. L'utente deve determinare gli intervalli appropriati per questi test in base alla frequenza di utilizzo dello strumento.



CAUTELA : Prima di avviare le misurazioni, accertarsi che la micropiastra sia inserita correttamente; il pozzetto A1 deve trovarsi in alto a sinistra.



AVVERTENZA : Le seguenti istruzioni descrivono la procedura di controllo qualità per verificare le specifiche dello strumento. Se i risultati di questi test di controllo non sono conformi alle specifiche dello strumento fornite nel presente manuale, contattare il centro di assistenza locale per ulteriori informazioni.

16.8.2 Accuratezza dell'iniettore

L'accuratezza è la capacità di un sistema di fornire risposte che si avvicinano a un valore reale. L'accuratezza viene calcolata come deviazione percentuale dal valore reale.

Materiale

- Acqua distillata
- Piastra a 96 pozzetti Greiner, fondo piatto, trasparente
- Bilance con specifiche di accuratezza di 1 mg

Procedura

Eseguire il priming dell'iniettore con acqua distillata. Pesare la piastra vuota e registrare il risultato. Distribuire 20 µl in 20 pozzetti di una piastra Greiner a 96 pozzetti (fondo piatto, trasparente) e ripesare immediatamente la piastra (tenere in considerazione gli effetti dell'evaporazione). Eseguire la procedura a temperatura ambiente (25 ° C).

Parametri di iniezione:

Iniettore	Selezionare l'iniettore A o B
Velocità	200 µl/s
Velocità di riempimento	Uguale alla velocità di iniezione
Modalità di riempimento	Standard
Volume di riempimento	Predefinito
File definizione piastra	GRE96ft
Porzione di piastra	D2-E10

Valutazione

Il peso di 400 µl di acqua distillata (20 x 20 µl) a 25 ° C è 398,8 mg (la densità dell'acqua è 0,997 mg/µl). Calcolare l'accuratezza (%) come segue:

$$\text{Accuracy}\,(\%) = \frac{398.8 - measured}{(398.8/100\ )}$$

17 Controllo ambientale

Il controllo di riscaldamento, gas e umidità del lettore multifunzione Tecan SPARK fornisce un sistema ottimale per la regolazione delle condizioni ambientali durante l'esecuzione di una misurazione.

17.1 Modulo di riscaldamento

Il modulo di riscaldamento consente il controllo della temperatura in un intervallo compreso tra 4 ° C al di sopra della temperatura ambiente fino a 42 ° C. Il riscaldamento della camera di misurazione richiede un po' di tempo. Controllare la schermata del controllo della temperatura. Se non viene incubata esternamente, lasciare che la micropiastra si stabilizzi prima di avviare la misurazione.



NOTA : Per mantenere la temperatura costante e garantire uniformità attraverso la piastra, è necessario collocare la piastra in posizione di incubazione durante le fasi di agitazione e di attesa. Quando la funzione di riscaldamento viene utilizzata durante l'agitazione, la temperatura può variare leggermente.

17.1.1 Impostazioni software per il controllo della temperatura

Il controllo della temperatura nel software può essere attivato manualmente o durante l'esecuzione di un metodo.



NOTA : Quando si avvia un metodo con controllo della temperatura, le impostazioni del metodo annullano sempre le impostazioni manuali se le relative definizioni non corrispondono.



CAUTELA : Quando si definiscono valori con punti decimali, utilizzare sempre il simbolo decimale definito nelle impostazioni di area geografica e lingua del sistema operativo del PC.



NOTA : Il riscaldamento dello strumento inizia all'avvio del metodo. Se l'opzione **Attendi temperatura** è selezionata, la misurazione non si avvierà finché la temperatura corrente dello strumento non sarà compresa nell'intervallo specificato. Per il pre-riscaldamento dello strumento, consultare il capitolo Controllo manuale della temperatura nelle istruzioni di SparkControl.

17.2 Sistema di raffreddamento

Il sistema di raffreddamento del lettore multifunzione SPARK consente di controllare la temperatura per mantenerla in un intervallo compreso tra 18 ° C e la temperatura ambiente.

La preparazione dello strumento e della camera di misurazione stessa per la fase di raffreddamento richiede un po' di tempo. Attenersi alle istruzioni riportate di seguito e controllare la schermata del controllo della temperatura. Se non viene incubata esternamente, lasciare che la micropiastra si stabilizzi prima di avviare la misurazione.

Il sistema di raffreddamento è costituito da due componenti principali: il dispositivo di raffreddamento liquidi esterno e il modulo di raffreddamento integrato (Te-Cool). I due componenti formano un sistema di circolazione chiuso.

Il dispositivo di raffreddamento liquidi è un'unità esterna che pompa liquido raffreddato nel modulo di raffreddamento integrato al fine di raffreddare l'aria, mentre il liquido riscaldato torna nel dispositivo stesso per essere nuovamente raffreddata.

Il modulo di raffreddamento integrato viene montato nella parte inferiore del lettore multifunzione SPARK. Raffredda l'aria e la convoglia nella camera di misurazione del lettore. L'aria calda torna nel modulo di raffreddamento integrato per essere nuovamente raffreddata.

Tecan consiglia e supporta esclusivamente il seguente dispositivo di raffreddamento liquidi: **Thermoelectric Re-circulating Liquid Chiller MRC 150/300 (Laird Technologies GmbH, Germania)**. Tecan declina qualsivoglia responsabilità per altri eventuali prodotti o soluzioni di raffreddamento liquidi. Prima di utilizzare il lettore SPARK insieme al modulo di raffreddamento integrato e al dispositivo di raffreddamento liquidi, leggere e seguire le istruzioni fornite dal produttore del dispositivo di raffreddamento liquidi (Laird Technologies, Manuale operativo).



AVVERTENZA : Tecan non si assume alcuna responsabilità per sistemi di raffreddamento liquidi diversi da quello raccomandato nel presente documento.



AVVERTENZA : Leggere attentamente e seguire le istruzioni fornite nel manuale operativo del dispositivo di raffreddamento liquidi esterno.



CAUTELA : Per garantire il funzionamento ottimale del sistema di raffreddamento, è necessario sottoporlo a una procedura di manutenzione annuale, che va eseguita da un tecnico dell'assistenza Tecan.

17.2.1 Impostazione del sistema di raffreddamento liquidi



CAUTELA : Se il dispositivo di raffreddamento liquidi esterno viene utilizzato dopo essere stato conservato o trasportato, deve essere lasciato in posizione verticale per almeno 3 ore, per consentire la regolazione della temperatura.

Prima di attivare l'opzione di controllo del raffreddamento, assicurarsi che il sito designato soddisfi i requisiti riportati di seguito. Collocare il dispositivo di raffreddamento liquidi esterno su una superficie piana, orizzontale, non soggetta a vibrazioni, al riparo dalla luce diretta del sole e priva di polvere, solventi e vapori acidi. Lasciare uno spazio sufficiente dietro lo strumento per accedere al pannello posteriore.

NOTA : Il sensore della temperatura ambiente si trova nella parte interna del pannello posteriore dello strumento e potrebbe essere influenzato da fonti di calore presenti nelle vicinanze.

Il dispositivo di raffreddamento liquidi esterno è dotato di un sistema di refrigerazione raffreddato ad aria e deve essere posizionato in modo da non limitare il flusso dell'aria. Le connessioni delle linee di mandata e di ritorno devono essere facilmente accessibili e tutti i tubi devono essere installati senza formare curve strette. Per una ventilazione adeguata, è necessaria una distanza minima di 0,3 m su tutti i lati ventilati.

CAUTELA : Lasciare uno spazio sufficiente tra il dispositivo di raffreddamento liquidi e gli oggetti adiacenti: 0,3 metri su tutti i lati ventilati. Una ventilazione inadeguata causa una riduzione della capacità di raffreddamento e la rottura del compressore.

Refrigerante

Come refrigerante è possibile utilizzare solo una miscela di acqua distillata e glicole propilenico. Tecan fornisce un concentrato di glicole propilenico. Prima di essere utilizzato, il concentrato (0,25 l) deve essere diluito con 0,75 l di acqua distillata, in modo da ottenere 1 l di refrigerante.
Non utilizzare mai altri refrigeranti né acqua di rubinetto, in quanto potrebbero corrodere lo strumento o causare danni dovuti all'inquinamento.

CAUTELA : Per evitare di danneggiare il modulo di raffreddamento integrato o il dispositivo di raffreddamento liquidi esterno (calcare, impermeabilità dei tubi), utilizzare esclusivamente il refrigerante raccomandato per il sistema di raffreddamento.

CAUTELA : Non utilizzare mai il dispositivo di raffreddamento liquidi senza refrigerante nel serbatoio!

17.2.2 Procedura di collegamento

CAUTELA : Utilizzare solo tubi di raffreddamento perfettamente integri.

Di seguito viene descritta la procedura di collegamento.

- Lettore SPARK e dispositivo di raffreddamento liquidi esterno: assicurarsi che i cavi dell'alimentazione di rete siano scollegati e che l'interruttore dell'alimentazione di rete sia in posizione OFF.
- Collegare la porta di USCITA (OUTLET) refrigerante della linea di mandata del liquido sul dispositivo di raffreddamento liquidi esterno alla porta di MANDATA (SUPPLY) dello strumento posta nella parte posteriore del modulo di raffreddamento integrato. Utilizzare il tubo fornito (vedere le figure sottostanti).
- Collegare la porta di INGRESSO (INLET) refrigerante della linea di ritorno liquido sul dispositivo di raffreddamento liquidi esterno alla porta di RITORNO (RETURN) dello strumento posta nella parte posteriore del modulo di raffreddamento. Utilizzare il tubo fornito.
- Collegare il modulo di raffreddamento integrato alla porta di raffreddamento del lettore SPARK utilizzando il cavo CAN fornito (vedere le figure sottostanti).

- Collegare il tubo della condensa dalla porta di SCARICO CONDENSA (CONDENSATE OUTLET) posta sul pannello posteriore dello strumento (modulo di raffreddamento integrato). Collocare un collettore per condensa (non fornito insieme allo strumento) alla fine del tubo (vedere le figure sottostanti).
- Aprire il serbatoio del refrigerante del dispositivo di raffreddamento liquidi esterno rimuovendo il tappo (vedere le figure sottostanti).
- Riempire il serbatoio del refrigerante per circa 2/3 di refrigerante.
- Chiudere il serbatoio del refrigerante del dispositivo di raffreddamento liquidi esterno riposizionando il tappo (vedere le figure sottostanti).

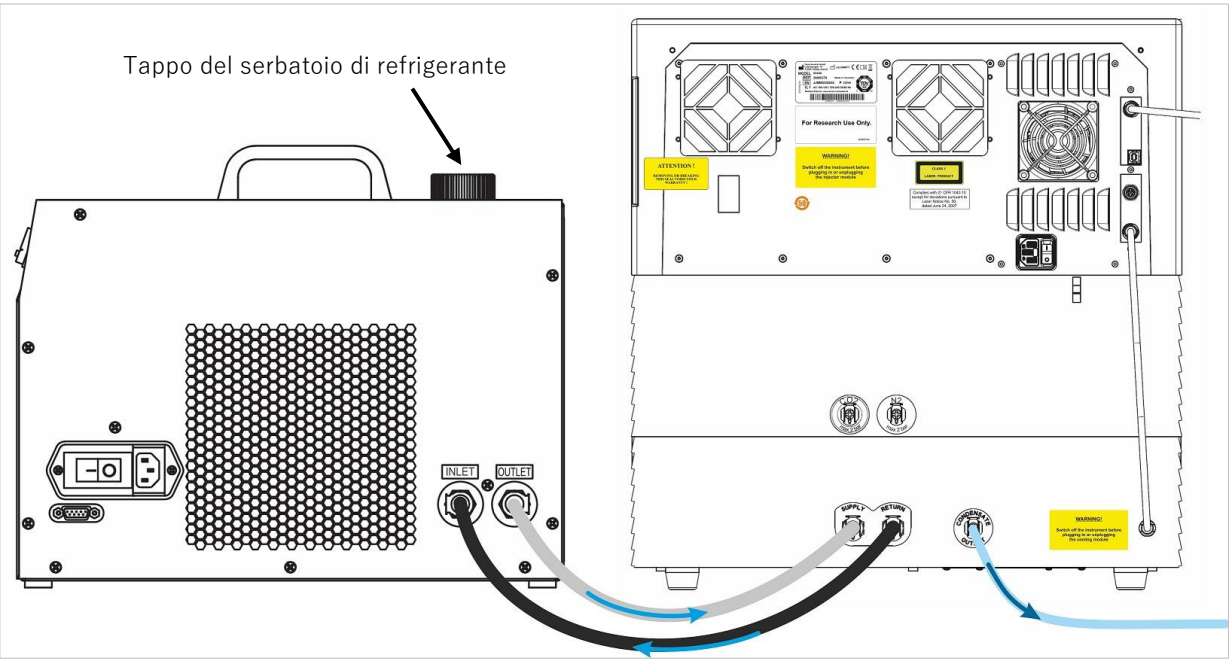


Figura 21: SPARK con modulo di raffreddamento integrato, collegato al dispositivo di raffreddamento liquidi esterno

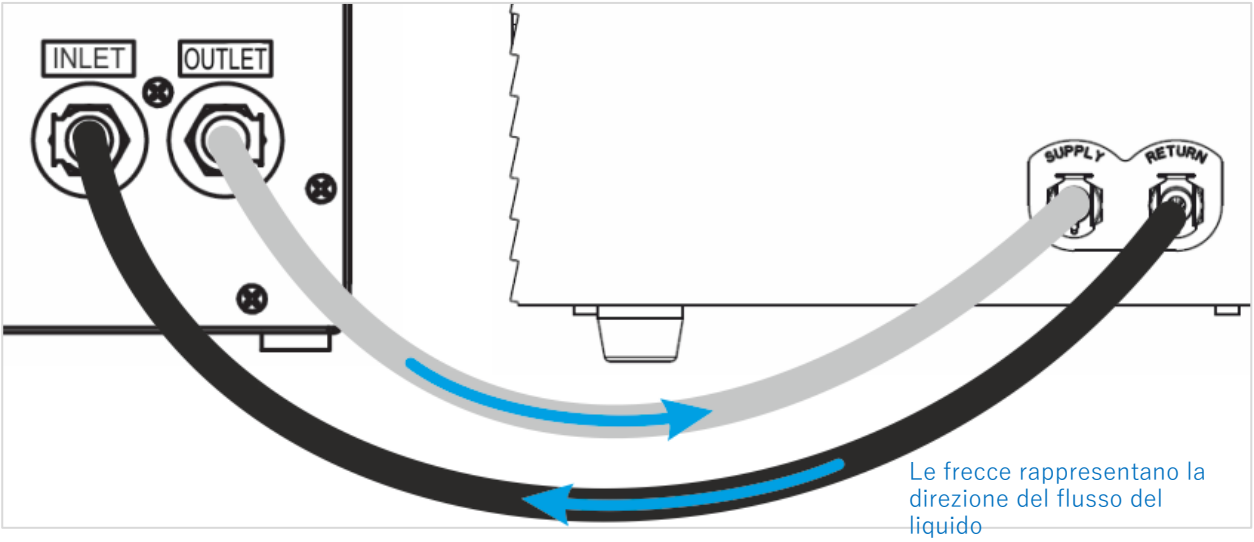


Figura 22: Collegamenti tra il modulo di raffreddamento integrato e il dispositivo esterno di raffreddamento a liquido

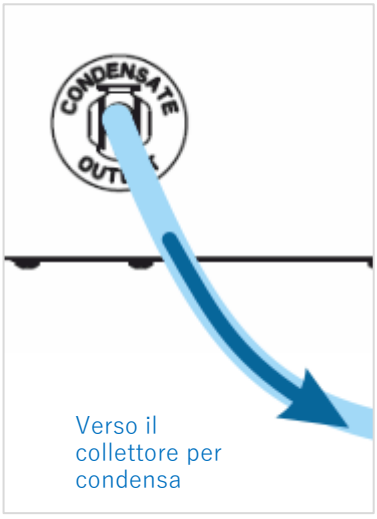


Figura 23: Scarico condensa

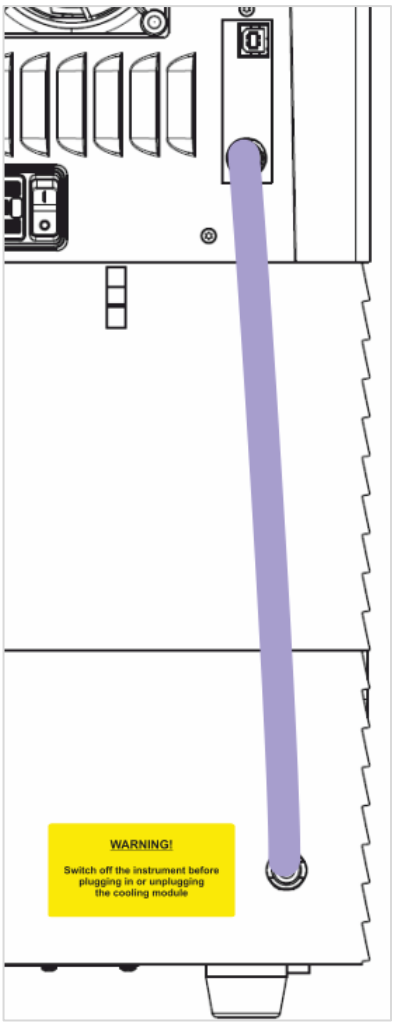


Figura 24: Cavo CAN

17.2.3 Accensione del dispositivo di raffreddamento liquidi esterno

1. Assicurarsi che il serbatoio del refrigerante sia pieno per circa 2/3.
2. Collegare il cavo dell'alimentazione di rete del dispositivo di raffreddamento liquidi a una fonte di alimentazione CA appropriata.
3. Accendere il dispositivo e lasciarlo funzionare per circa 10 minuti per riempire e scaricare il sistema di raffreddamento. Controllare continuamente il livello di riempimento durante la procedura. Se necessario, aggiungere refrigerante.
4. Verificare la conformità ai parametri operativi (consultare il manuale operativo del dispositivo di raffreddamento a liquido).
5. Impostare il dispositivo di controllo digitale a 12 ° C (consultare il manuale operativo del dispositivo di raffreddamento a liquido).
6. Reinstallare il tappo sul serbatoio di refrigerante.
7. L'apparecchio è ora pronto per essere utilizzato.

NOTA : Per l'avvio quotidiano, accendere il dispositivo di raffreddamento liquidi un po' di tempo prima dell'utilizzo, in funzione della temperatura ambiente del laboratorio.

CAUTELA : Posizionare il dispositivo di raffreddamento liquidi il più vicino possibile allo strumento da raffreddare, in modo che i tubi siano dritti e non presentino curve o attorcigliamenti.

17.2.4 Messa in funzione del modulo di raffreddamento integrato (Te-Cool)

Accendere l'interruttore dell'alimentazione di rete del dispositivo di raffreddamento liquidi esterno e impostare la temperatura target a 12 ° C. Per l'impostazione della temperatura, consultare il Manuale operativo del refrigeratore termoelettrico di liquido a circolazione MRC 150/300 di Laird Technologies.

Attendere che il refrigerante si stabilizzi prima di avviare una misurazione utilizzando la funzione di raffreddamento del software SparkControl. A seconda delle impostazioni della temperatura target, delle condizioni ambientali e della temperatura attuale della camera di misurazione, quest'operazione può richiedere da 30 a 90 minuti.

Insieme allo strumento vengono forniti due tappi anticondensa (vedere la figura sottostante) da inserire nelle fessure presenti sul lato destro e sinistro del modulo di raffreddamento integrato. Non devono essere installati automaticamente. Nel caso in cui venissero installati, il modulo di raffreddamento si riscalderebbe, ostacolando il raggiungimento della temperatura di raffreddamento target. I tappi devono essere installati per evitare la formazione di condensa quando la funzione di raffreddamento opera a pieno regime (grande differenza tra temperatura ambiente e temperatura target). In caso contrario, potrebbe verificarsi un accumulo d'acqua.

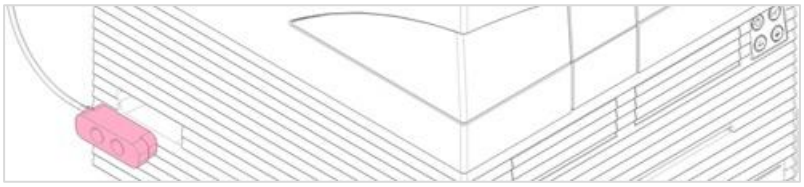


Figura 25: Tappi anticondensa (entrambi i lati dello strumento)

NOTA : I tappi anticondensa devono essere installati dall'utente solo nel caso in cui si preveda una grande differenza tra la temperatura ambiente e la temperatura target.

17.2.5 Impostazioni software per il controllo della temperatura

NOTA : Accendere sempre il dispositivo di raffreddamento liquidi esterno quando si utilizza il controllo della temperatura.

Per le impostazioni software, consultare il capitolo 17.1 Modulo di riscaldamento.

Modalità di raffreddamento ambiente

La modalità di raffreddamento ambiente è progettata per impostare in tutta facilità la temperatura ambiente come temperatura target per lo strumento. Può essere attivata tramite la finestra **Controllo della temperatura** nel dashboard o nell'editor di metodo:

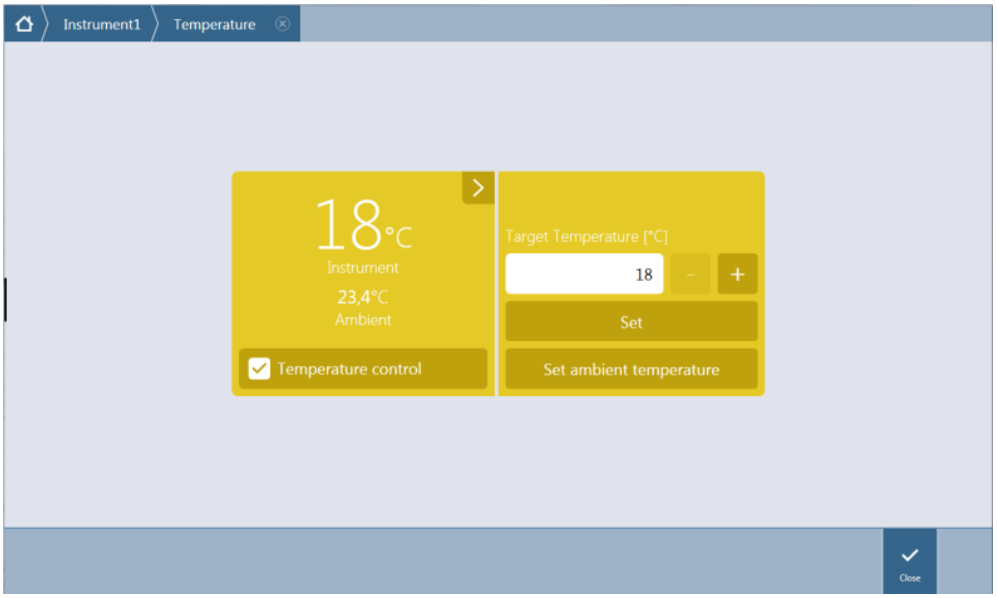


Figura 26: Finestra Controllo temperatura per strumenti con modulo di raffreddamento

Selezionare **Controllo temperatura** e fare clic su **Imposta temperatura ambiente.** La temperatura ambiente corrente verrà impostata automaticamente come temperatura target. Visualizzare la temperatura corrente all'interno dello strumento selezionando il pulsante di espansione in alto a destra del riquadro Controllo temperatura. Deselezionare la casella di controllo **Controllo temperatura** per interrompere il raffreddamento.

17.2.6 Funzione di allarme/Risoluzione dei problemi

Per le funzioni di allarme del dispositivo di raffreddamento liquidi esterno e per la risoluzione dei problemi, consultare il Manuale operativo del refrigeratore termoelettrico di liquido a circolazione MRC 150/300 (Laird Technologies GmbH).

Per ulteriori servizi e problemi tecnici, contattare il proprio centro assistenza locale Tecan.

17.2.7 Manutenzione

Per la manutenzione del dispositivo di raffreddamento liquidi esterno, consultare il Manuale operativo del refrigeratore termoelettrico di liquido a circolazione MRC 150/300 (Laird Technologies GmbH).

Per la manutenzione giornaliera, ispezionare i tubi per escludere la presenza di attorcigliamenti e perdite e controllare che siano tutti collegati correttamente. Controllare che il dispositivo di raffreddamento liquidi esterno sia pieno di refrigerante. Verificare il livello nel collettore per condensa e, se necessario, svuotarlo.

17.3 Controllo gas

Il Gas Control Module (Modulo per il controllo dei gas) offre una soluzione completa per varie applicazioni basate su cellule per il lettore multifunzione SPARK. Due ingressi per gas integrati consentono il controllo di CO_2 e O_2 per aiutare a mantenere condizioni delle colture stabili e migliorare la crescita cellulare. La concentrazione di anidride carbonica viene regolata da un afflusso di gas CO, mentre la riduzione dell'ossigeno si ottiene mediante l'erogazione di gas N_2.

Se dotato del Modulo per il controllo dei gas, lo strumento può essere utilizzato per studi in vitro di linee cellulari eucariote, oltre che per l'analisi di batteri anaerobi o anaerobi facoltativi.

Il Gas Control Module è disponibile in due configurazioni:

Configurazione CO_2	La concentrazione di CO_2 può essere regolata all'interno della camera di misurazione
Configurazione CO_2 e O_2	La concentrazione di CO_2 e/o O_2 può essere regolata all'interno della camera di misurazione.

17.3.1 Sicurezza gas

Attenersi alle seguenti indicazioni:

- quando si utilizza il Gas Control Module, seguire sempre le precauzioni di sicurezza di base per ridurre il rischio di infortuni, incendi o scosse elettriche.
- Leggere e comprendere tutte informazioni riportate in questo capitolo. La mancata lettura, comprensione e osservanza di tali istruzioni può causare un cattivo funzionamento o un danneggiamento dello strumento o del Gas Control Module, oltre che lesioni al personale operativo.
- Osservare tutte le indicazioni di AVVERTENZA e di CAUTELA riportate nel presente capitolo. Assicurarsi che le presenti informazioni di sicurezza siano accessibili a tutti i dipendenti che lavorano con il Gas Control Module.
- Resta inoltre sottinteso che il personale addetto all'uso dello strumento, sulla base della propria esperienza professionale, debba avere familiarità con le precauzioni di sicurezza necessarie per la manipolazione di gas e sostanze biologicamente pericolose.
- Adottare precauzioni adeguate quando si lavora con materiale potenzialmente infettivo. Assicurarsi di trattare il materiale a rischio biologico in conformità con le norme e gli standard di sicurezza applicabili, nonché con le direttive inerenti le corrette pratiche di laboratorio.
- Quando si utilizzano gas compressi al di fuori dello strumento con lo strumento aperto, indossare occhiali protettivi.



AVVERTENZA : L'opzione del controllo del gas è prevista solo per l'erogazione di CO_2 (anidride carbonica) e N_2 (azoto). L'opzione del controllo del gas deve essere utilizzata solo da personale adeguatamente formato.

NON UTILIZZARE MAI GAS INFIAMMABILI O CRIOGENICI.



AVVERTENZA : È necessario predisporre una ventilazione adeguata per il locale in cui vengono utilizzati CO_2 e N_2.

AVVERTENZA : Attenersi alle misure di sicurezza necessarie per lavorare con gas compressi (trasporto, stoccaggio, manipolazione e utilizzo).

Le bombole di gas contenenti CO_2 e N_2 devono essere sempre fissate in posizione verticale a un grande oggetto inamovibile.

Proteggere sempre la bombola di gas da eventuali cadute! In caso di caduta e danneggiamento, una bombola di gas compresso può facilmente diventare un proiettile letale!

17.3.2 Collegamento gas

Utilizzare il Gas Control Module in un ambiente ben ventilato, a temperatura e umidità controllate (dotato di aria condizionata). Prima di attivare l'opzione di controllo del gas, assicurarsi che il sito designato soddisfi i seguenti requisiti:

temperatura: 15 ° C (59 ° F) - 35 ° C (86 ° F)

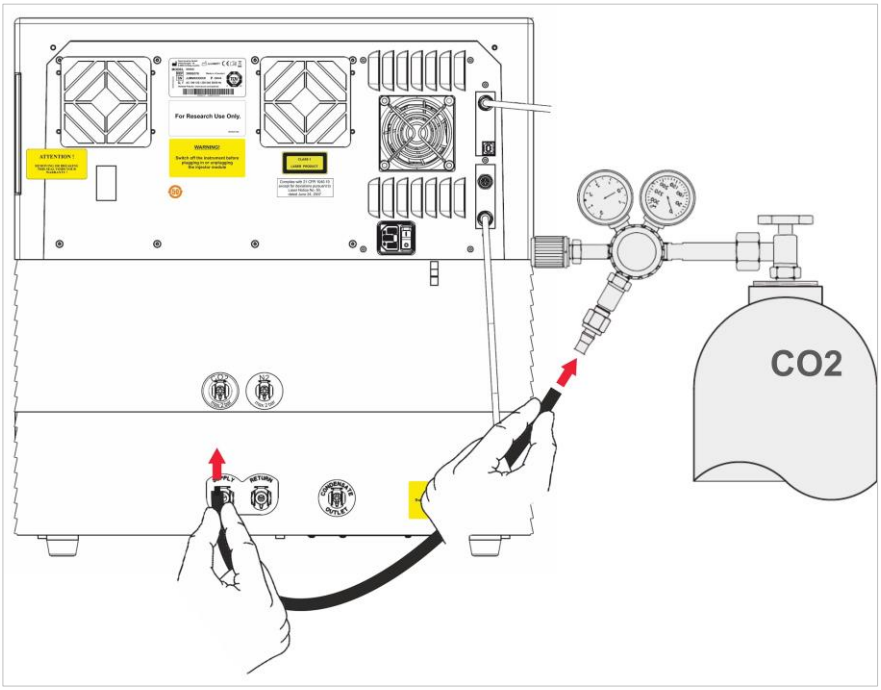
Non esporre lo strumento alla luce diretta del sole e non collocarlo in prossimità di fonti di calore. Mantenere un basso livello di polvere nell'ambiente. Tenere lo strumento al riparo da liquidi e vapori. Lasciare uno spazio sufficiente dietro lo strumento per accedere al pannello posteriore. Assicurarsi che tutti i tubi del gas siano accessibili e liberi da ostruzioni.

AVVERTENZA : Per impostare i parametri di erogazione di CO_2 e/o N_2, attenersi alle precauzioni di manipolazione dei gas appropriate. Leggere tutte le informazioni riportate sulle etichette e le schede dei dati di sicurezza (MSDS) del produttore o del fornitore.

AVVERTENZA : Utilizzare sempre un regolatore approvato per il gas specifico con manometri di alta e bassa pressione.

Di seguito viene fornita una descrizione dettagliata della procedura di collegamento del gas.

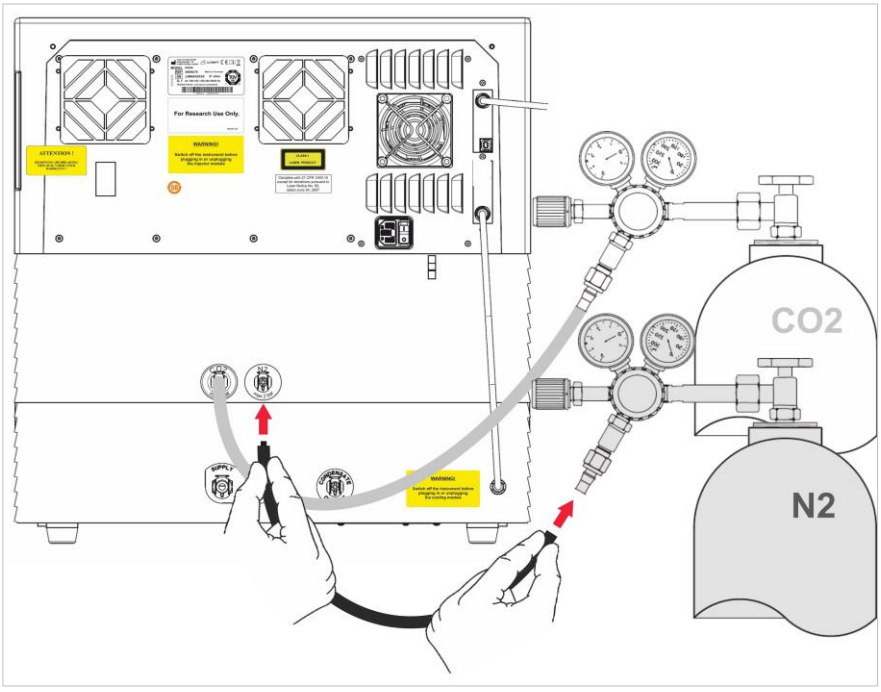
Collegare la presa del regolatore di pressione della bombola di CO_2 o il sistema per la gestione dei gas di laboratorio alla porta di ingresso dello strumento (**CO_2**) nella parte posteriore. Utilizzare il tubo fornito con connettore ad attacco rapido e collegare il tubo al regolatore della bombola con un morsetto di plastica, come illustrato nella figura sottostante.



Avviare il software SparkControl e inserire l'altezza sopra il livello del mare della propria posizione (per ulteriori informazioni, consultare la Guida di riferimento et le istruzioni di SparkControl).

NOTA : Prima di iniziare a lavorare con il modulo del gas, è necessario inserire l'altezza sopra il livello del mare della propria posizione tramite il software SparkControl.

Se il **Gas Control Module** è configurato per **CO_2** e **O_2**, è possibile utilizzare azoto per regolare la quantità di ossigeno, oltre alla regolazione della CO_2. Collegare l'attacco del regolatore di pressione della bombola di N_2 o l'alimentazione del gas centrale alla porta di ingresso dello strumento (N_2) nella parte posteriore. Utilizzare il tubo fornito con connettore ad attacco rapido e collegare il tubo al regolatore della bombola con un morsetto di plastica, come illustrato nella figura sottostante.



17.3.3 Bombole di CO_2 e N_2 (non incluse nella fornitura)

Per controllare la concentrazione di gas, è necessario disporre di bombole del gas o di un sistema per la gestione dei gas di laboratorio con valvole per la riduzione della pressione.

Gas: anidride carbonica (CO_2) per regolare la concentrazione di CO_2; azoto (N_2) per ridurre la concentrazione di O_2 (ad esempio, bombola da 50 l). Si raccomanda che i gas siano conformi alla seguente purezza del gas:

Gas	Purezza del gas
CO_2	≥ 99,0 %
N_2	≥ 99,9 %

La valvola per la riduzione della pressione deve avere due manometri: uno per la pressione all'interno della bombola (manometro di alta pressione) e uno per la pressione ridotta di massimo 2 bar (max 29 psi; manometro di bassa pressione). Tenere presente che il display per regolare la pressione ha un intervallo di 5 bar (72,5 psi) o di massimo 15 bar (217,5 psi) per consentire la regolazione da 1 a 2 bar. Assicurarsi che la valvola per la riduzione della pressione sia progettata per l'uso con applicazioni biologiche (chiedere al produttore).

L'attacco per il collegamento della bombola del gas alla valvola per la riduzione della pressione è diverso per ogni Paese. **Per l'attacco corretto, consultare un fornitore di bombole di gas nel proprio Paese.** Verificare che l'elemento di collegamento della valvola per la riduzione della pressione corrisponda al diametro interno del tubo del gas collegato allo strumento. Il diametro interno di questo tubo è di circa 6 mm. Il tubo sul connettore di collegamento alla valvola per la riduzione della pressione deve essere fissato con un morsetto di plastica. Per completare questa operazione sarà necessario un paio di pinze.

Assicurarsi che il tubo non sia piegato né attorcigliato.

Se necessario, convertire i bar in psi: bar x 14,5 = psi (libbre per pollice quadrato), ad esempio, 2 bar = 29,0 psi.

Per evitare eventuali cadute della bombola del gas, è possibile acquistare da un fornitore di bombole oppure ordinare da catalogo di laboratorio un apposito supporto o un supporto per tavolo (con catena o cinghia di sicurezza), oppure una gabbia per bombole.



AVVERTENZA : Prima di aprire la valvola principale, assicurarsi che il regolatore e le valvole di intercettazione siano chiuse.



AVVERTENZA : Assicurarsi che il gas (CO_2 e N_2) verso lo strumento non superi una pressione massima di 2 bar.



AVVERTENZA : Tenere chiuso l'alloggiamento dell'iniettore durante l'erogazione del gas. Inserire l'iniettore dummy se l'iniettore non è in uso.



AVVERTENZA : Prima di eseguire un metodo con erogazione di gas, controllare i tubi e i connettori del gas per escludere la presenza di perdite e assicurarsi che i tubi e i connettori siano fissati correttamente.

17.3.4 Impostazioni software per il controllo del gas

Il controllo del gas può essere attivato manualmente o nell'ambito dell'esecuzione di un metodo.

NOTA : Quando si avvia un metodo con controllo del gas, le impostazioni del metodo annullano sempre le impostazioni manuali se le relative definizioni non corrispondono.

NOTA : Prima di iniziare a lavorare con il modulo del gas, è necessario inserire l'altezza sopra il livello del mare della propria posizione tramite le impostazioni Strumento.

17.3.5 Controllo manuale del gas

Il controllo del gas può essere attivato manualmente tramite la finestra **Controllo gas** nel **dashboard** o nel **editor di metodo**.

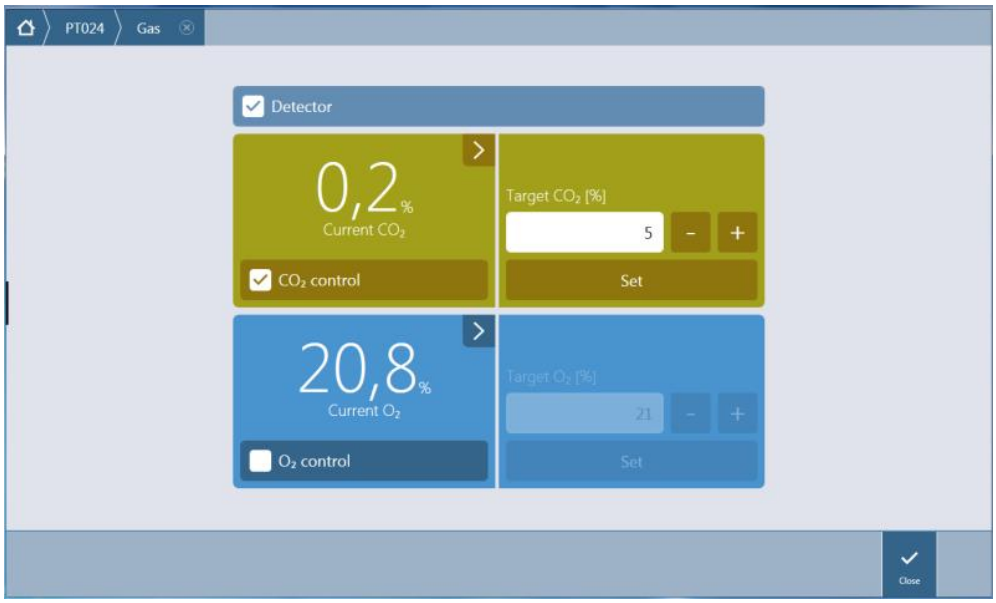


Figura 27: Finestra Controllo gas

Selezionare **Rivelatore** per accendere il rivelatore/i rivelatori di gas. Selezionare **Controllo CO_2** e/o **Controllo O_2**. Inserire la concentrazione gas target e fare clic su **Imposta** per avviare la regolazione del gas. Visualizzare la concentrazione corrente del gas all'interno dello strumento selezionando il pulsante di espansione in alto a destra del riquadro di controllo. Deselezionare le caselle di controllo Controllo gas per interrompere la regolazione del gas. Deselezionare la casella di controllo **Rivelatore** per spegnere i rivelatori di gas.

CAUTELA : Quando si definiscono valori con punti decimali, utilizzare sempre il simbolo decimale definito nelle impostazioni di area geografica e lingua del sistema operativo del PC.

NOTA : L'accensione dei rivelatori di gas potrebbe richiedere alcuni minuti.

17.3.6 Controllo del gas tramite il metodo

NOTA : La regolazione del gas inizia all'avvio del metodo. Se l'opzione **Attendi gas** è selezionata, la misurazione non si avvierà finché la concentrazione corrente del gas non sarà compresa nell'intervallo specificato. Per informazioni su come regolare le impostazioni del gas prima di eseguire le misurazioni, consultare il capitolo 17.3.5 Controllo manuale del gas.

NOTA : L'accensione dei rivelatori di gas potrebbe richiedere alcuni minuti. Si consiglia di accendere i rivelatori prima di avviare una misurazione con controllo del gas.

Striscia Gas

La striscia viene utilizzata per il controllo del gas.

Per ulteriori informazioni, consultare le istruzioni di SparkControl.

CAUTELA : Quando si definiscono valori con punti decimali, utilizzare sempre il simbolo decimale definito nelle impostazioni di area geografica e lingua del sistema operativo del PC.

AVVERTENZA : Assicurarsi che la quantità di CO_2 o N_2 fornita durante l'incubazione sia sufficiente. L'esaurimento del gas o la mancata erogazione di gas potrebbe influenzare negativamente o danneggiare l'applicazione basata su cellule.

AVVERTENZA : Assicurarsi di applicare una pellicola adesiva gas-permeabile appropriata o un coperchio sulla micropiastra. La sigillatura della piastra facilita lo scambio dei gas (ventilazione) delle colture, fungendo contemporaneamente da barriera per ridurre l'evaporazione durante l'erogazione di gas.

NOTA : Includere sempre controlli positivi e/o negativi appropriati nel proprio dosaggio per riflettere gli effetti sulla percentuale di cellule vive durante l'incubazione.

AVVERTENZA : Trattare il materiale a rischio biologico in conformità alle norme e agli standard di sicurezza applicabili.

17.3.7 Allarme acustico

Se la concentrazione target non viene raggiunta entro 20 minuti dall'attivazione iniziale di una modalità gas o quando una deviazione dura più di 10 minuti durante il funzionamento, ad esempio, con una deviazione > +/- 20%, verrà emesso un allarme acustico. Ciò indica, ad esempio, l'esaurimento del gas nella bombola (bombola vuota). Viene visualizzato un messaggio in cui si indica il gas interessato e si specifica la corrispondente bombola del gas da controllare. Fare clic su OK per arrestare l'allarme acustico e continuare il metodo.

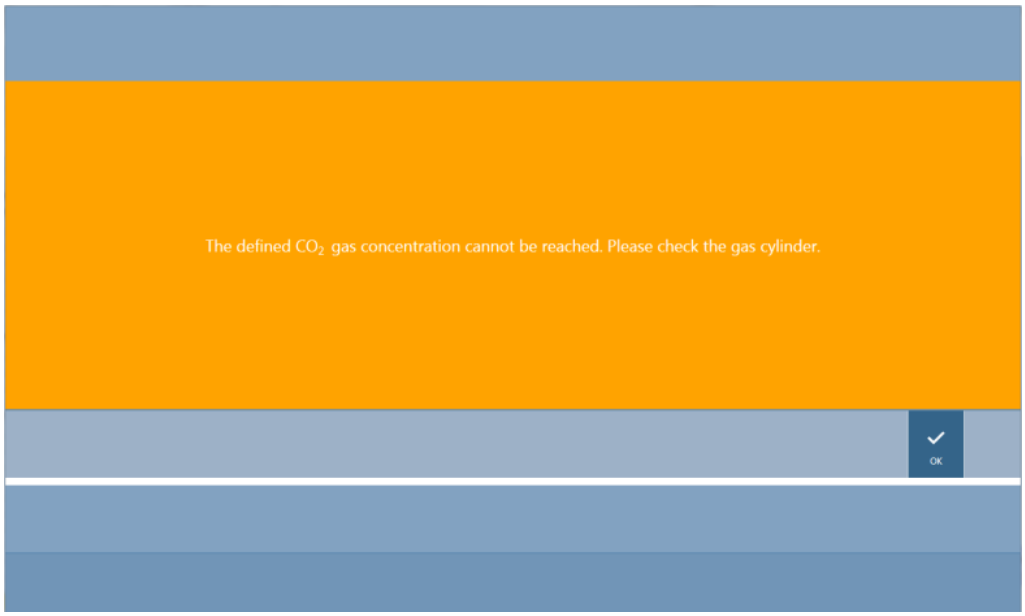


Figura 28: Arresto dell'allarme del gas

Se l'alimentazione di rete viene meno, le valvole del gas si chiudono automaticamente.

17.4 Controllo dell'umidità

L'evaporazione è più marcata quando si conducono studi a lungo termine (almeno 3 giorni). Soprattutto quando si eseguono esperimenti con cellule vive per periodi di tempo prolungati è possibile che si verifichino effetti di evaporazione significativi che interessano, in particolare, i pozzetti più esterni della micropiastra e i pozzetti in corrispondenza degli angoli. Quando l'acqua evapora, le concentrazioni di sostanze nel mezzo aumentano, il che può influenzare la crescita cellulare e le prestazioni, generando risultati eterogenei o distorti.

La Humidity Cassette stabilizza passivamente l'umidità e riduce l'evaporazione per incubazioni di lunga durata. La Humidity Cassette può essere combinata con formati piastra da 1 a 384 pozzetti conformi alle norme SBS e consente anche l'incubazione e il rilevamento simultanei del segnale in tutte le modalità di misurazione. Le fasi di scambio dei gas (ventilazione), rilevamento del segnale nonché iniezione sono supportate insieme all'opzione di sollevamento del coperchio. L'agitazione in associazione alla Humidity Cassette è limitata alla modalità orbitale e doppio orbitale.

NOTA : La Humidity Cassette è sempre associata all'opzione di sollevamento del coperchio.

Le configurazioni di SPARK CYTO richiedono delle humidity cassette con dimensioni modificate, che si distinguono per la dicitura Cyto posta sull'etichetta dell'imballaggio. I livelli di riempimento massimo dei serbatoi sono diversi rispetto alle humidity cassette standard. Tutti i formati piastra (da 6 a 384 pozzetti) sono compatibili e la modalità di utilizzo da parte dell'utente rimane invariata.

AVVERTENZA : Le humidity cassette Cyto devono sempre essere usate in combinazione con il modulo Cell Imager per evitare danni allo strumento.

17.4.1 Humidity Cassette Standard / Cyto

La Humidity Cassette è costituita da serbatoi d'acqua e da un coperchio con un cuscinetto magnetico che facilita il sollevamento del coperchio. Il coperchio è chiuso per evitare l'evaporazione. Per consentire lo scambio dei gas, l'opzione di sollevamento del coperchio (ventilazione) deve essere selezionata prima nel software.

AVVERTENZA : Le humidity cassette non sono compatibili nel modulo Spark-Stack.



Figura 29: Humidity Cassette

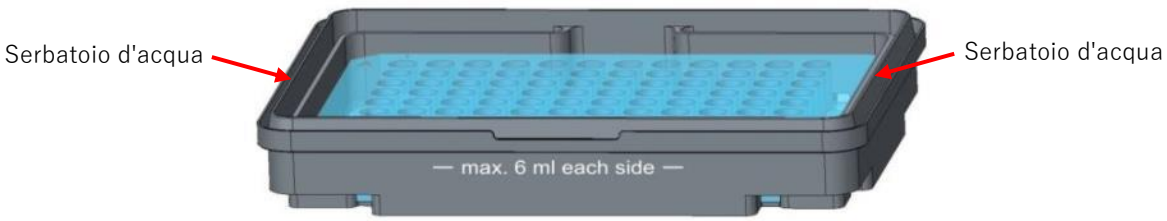


Figura 30: Parte principale della Humidity Cassette che tiene la micropiastra e contiene i serbatoi d'acqua

Humidity Cassette standard

Sono disponibili due tipi di cassette diverse: una grande e una piccola, per diversi tipi di micropiastre.

Humidity Cassette - piccola: utilizzabile per piastre da 96 e 384 pozzetti senza coperchio. L'altezza massima è 16 mm. Utilizzando l'opzione di sollevamento del coperchio nel software, tutte le modalità di rilevamento possono essere abbinate alla Humidity Cassette piccola. Il livello di riempimento massimo in ogni serbatoio è di 4 ml.

Humidity Cassette - grande: utilizzabile per piastre da 6 a 384 pozzetti con o senza coperchio, con un'altezza massima di 23 mm (incluso il coperchio). Utilizzando l'opzione di sollevamento del coperchio nel software, tutte le modalità di rilevamento, eccetto la luminescenza, possono essere abbinate alla Humidity Cassette grande. Il livello di riempimento massimo in ogni serbatoio è di 6 ml.

Humidity Cassette Cyto

Le humidity cassette fornite in combinazione con il modulo Cell Imager hanno livelli di riempimento massimo diversi rispetto alle humidity cassette standard.

Humidity Cassette Cyto piccola: utilizzabile per piastre da 96 e 384 pozzetti senza coperchio. L'altezza massima è 16 mm. Utilizzando l'opzione di sollevamento del coperchio nel software, tutte le modalità di rilevamento possono essere abbinate alla cassetta per bassa umidità. Il livello di riempimento massimo è di 3 ml per ogni serbatoio.

Humidity Cassette Cyto grande: utilizzabile per piastre da 6 a 384 pozzetti con o senza coperchio, con un'altezza massima di 23 mm (incluso il coperchio). Utilizzando l'opzione di sollevamento del coperchio nel software, tutte le modalità di rilevamento, eccetto la luminescenza, possono essere abbinate alla cassetta per alta umidità. Il livello di riempimento massimo è di 5,2 ml per ogni serbatoio.

AVVERTENZA : Selezionare il tipo di Humidity Cassette corretto (piccola o grande) nel software per evitare danni allo strumento.

17.4.2 Procedura di manipolazione

1. Utilizzando una pipetta, riempire ogni serbatoio con 3-4 ml di acqua distillata in caso di cassetta piccola e con 6 ml di acqua in caso di cassetta grande.
2. Inserire la micropiastra (con o senza coperchio) contenente i campioni da analizzare nella parte principale della Humidity Cassette. Verificare che l'orientamento sia corretto secondo le relative indicazioni sulla cassetta.
3. Posizionare il coperchio sulla cassetta per chiudere correttamente la Humidity Cassette, far corrispondere la posizione A1 della micropiastra con la posizione A1 del coperchio della cassetta.
4. Collocare la Humidity Cassette sul porta-piastre. Prestare attenzione all'orientamento corretto: il pozzetto A1 deve trovarsi in alto a sinistra.

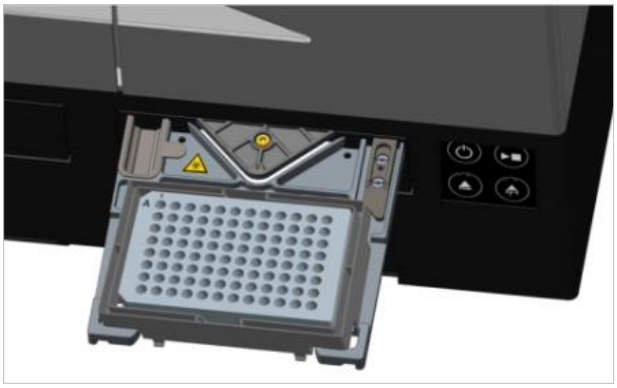


Figura 31: Micropiastra sul porta-piastre con il pozzetto A1 nell'angolo superiore sinistro

5. Avviare il metodo.



CAUTELA : Prima di avviare le misurazioni utilizzando la Humidity Cassette, assicurarsi che la posizione della micropiastra e la posizione A1 della cassetta sia corretta. Il pozzetto A1 deve trovarsi in alto a sinistra.



AVVERTENZA : Non riempire i serbatoi con una quantità d'acqua superiore a quella raccomandata per evitarne il traboccamento.



AVVERTENZA : Prima che la Humidity Cassette venga posizionata sul porta-piastre, assicurarsi che il coperchio della cassetta si chiuda correttamente.

6. Al termine dell'analisi e una volta che il porta-piastre è in posizione estratta, la Humidity Cassette contenente la micropiastra portacampioni può essere facilmente rimossa dal porta-piastre. Rimuovere il coperchio della cassetta e mettere la parte inferiore della Humidity Cassette contenente la micropiastra sullo strumento di scarico, per rimuovere facilmente la piastra dalla cassetta.

La Humidity Cassette può essere pulita con alcol etilico al 70% o sterilizzata a un massimo di 125 °C.

Lo strumento di scarico si trova nell'imballaggio originale della Humidity Cassette sotto la parte inferiore della Humidity Cassette. È stato ricavato dal materiale d'imballaggio, ma non rimosso. Rimuovere l'inserto in schiuma spingendolo fuori.



Figura 32: Strumento di scarico (Parte dell'imballaggio)

17.4.3 Impostazioni software

La Humidity Cassette può essere selezionata nella striscia Piastra.

NOTA : La Humidity Cassette viene utilizzata Insieme al Lid Lifter. Prima dell'uso, assicurarsi di aver fissato un cuscinetto magnetico al coperchio della cassetta.

NOTA : L'opzione **Coperchio rimovibile** non può essere utilizzata con la Humidity Cassette. Se si utilizza un coperchio per la piastra, selezionare l'opzione **Coperchio** nel software.

Ventilazione

Le impostazioni di ventilazione, ad esempio, la durata e il tempo di intervallo, possono essere definite nelle strisce **Agitazione** e **Attesa**.

Agitazione

L'agitazione in combinazione alla Humidity Cassette è limitata alla modalità orbitale e doppio orbitale per evitare fuoriuscite di liquido.

17.5 Specifiche per il controllo ambientale

NOTA : Tutte le specifiche sono soggette a modifiche senza preavviso.

17.5.1 Riscaldamento

Parametri	Caratteristiche
Intervallo di riscaldamento	Da +3 ° C sopra la temperatura ambiente fino a +42 ° C
Intervallo di riscaldamento con controllo gas attivo	Da +3 ° C sopra la temperatura ambiente fino a +42 ° C
Uniformità di riscaldamento	< 0,5 ° C tra 30 ° C e 37 ° C in posizione di incubazione
Condizioni operative ambientali	Da +15 ° C a +35 ° C

17.5.2 Raffreddamento

Parametri	Caratteristiche
Intervallo di raffreddamento	Da +18 ° C fino a +42 ° C
Uniformità di raffreddamento su piastra a 96 pozzetti	< 1 C a una temperatura della piastra compresa tra 18 ° C e 37 ° C
Condizioni operative ambientali	+ 18 ° C sopra la temperatura ambiente, fino a +30 ° C

17.5.3 Controllo gas

Parametri	Caratteristiche
Intervallo di concentrazione CO_2	Dallo 0,04% al 10% in volume
Accuratezza della concentrazione CO_2	< 1 %
Intervallo di concentrazione O_2	Dallo 0,1% al 21% in volume (regolazione imprecisa al di sotto dello 0,5% e dello 0,8% con raffreddamento attivo)
Accuratezza della concentrazione O_2	< 0,5 %

NOTA : L'accuratezza di misurazione del sensore di Co_2 diventa imprecisa con una concentrazione di gas inferiore allo 0,1 %.

17.5.4 Controllo dell'umidità

Parametri	Caratteristiche
Piastra a 96 pozzetti con coperchio, 4 giorni di incubazione a +37 ° C con 5% di CO_2	Evaporazione < 10% (esclusi pozzetti esterni; prima e ultima colonna, prima e ultima riga)
Condizione di esercizio	Da +18 ° C a +42 ° C

18 Applicazione NanoQuant

La piastra NanoQuant è studiata per consentire di quantificare gli acidi nucleici e le proteine presenti in un piccolo volume di 2 µl usando l'assorbanza come modalità di rilevamento.

Tecan fornisce due applicazioni ottimizzate per l'analisi di routine degli acidi nucleici: **NanoQuant Quantitation App** (applicazione di quantificazione NanoQuant), che viene usata per la quantificazione degli acidi nucleici a 260 nm e per consentire un facile accesso alle informazioni riguardanti la concentrazione e la purezza del campione esaminato.

Labeling Efficiency App (applicazione per l'efficienza di etichettatura) fornisce inoltre informazioni sulla concentrazione del marcatore o dei marcatori utilizzati nella procedura di etichettatura.

Per la determinazione quantitativa delle proteine, Tecan offre l'applicazione **NanoQuant Protein Quantitation App** (applicazione di quantificazione delle proteine). La quantificazione delle proteine viene eseguita misurando la loro assorbanza specifica a 280 nm.

Per ulteriori informazioni, consultare le istruzioni di SparkControl.

18.1 Nucleic Acid Quantitation App

NOTA : I campioni puri di DNA hanno un rapporto di assorbanza 260/280 compreso tra 1,8 e 1,9, mentre i campioni puri di RNA hanno un rapporto di circa 2,0. Un rapporto con valori più bassi di quelli appena descritti potrebbe indicare la presenza di proteine o di altri agenti contaminanti. In questo caso, si consiglia di procedere a una purificazione supplementare.

NOTA : Gli acidi nucleici puri hanno un rapporto 260/230 compreso tra 2,0 – 2,2 Se questo rapporto risulta sensibilmente inferiore rispetto alle attese, ciò potrebbe indicare la presenza, ad esempio, di sali o solventi organici. In questo caso, si consiglia di procedere a una purificazione supplementare.

NOTA : Per la misurazione individuale dei pozzetti di bianco è necessario effettuare la misurazione del bianco per tutti i pozzetti che saranno utilizzati per le misurazioni successive. La correzione del bianco nei campioni viene eseguita facendo riferimento al singolo valore del bianco rilevato nel corrispondente pozzetto sulla piastra NanoQuant. Per la misurazione individuale dei pozzetti di bianco, è necessario selezionare almeno un pozzetto.

NOTA : Valore medio del bianco: è necessario selezionare almeno due pozzetti, indipendentemente dal numero di pozzetti utilizzati per la misurazione successiva di campioni. Si fa una media tra i valori del bianco rilevati e il valore medio risultante dal calcolo viene usato per correggere i valori di misurazione del campione.

NOTA : I risultati relativi al bianco vengono memorizzati in base ai parametri della misurazione del bianco, alle impostazioni della lunghezza d'onda e al tipo di campione. Se uno di questi parametri viene modificato, la procedura della misurazione del bianco deve essere ripetuta.

18.1.1 Criteri di convalida dei risultati della misurazione del bianco

NOTA : Per la misurazione individuale dei pozzetti di bianco non sono richiesti criteri specifici.

NOTA : Valore medio del bianco: un risultato della misurazione del bianco è valido se il CV (coefficiente di variazione) dei valori OD grezzi a 260 nm è inferiore alla soglia del 10%. Se non viene soddisfatto questo criterio, la procedura di misurazione del bianco deve essere ripetuta e il dispositivo impedisce la misurazione del campione. I pozzetti che mostrano valori superiori alla soglia CV consentita vengono evidenziati.

18.1.2 Ripetizione della procedura di misurazione del bianco

NOTA : Ripetere la procedura di misurazione del bianco in caso si ottengano risultati errati oppure se si usano nuovi campioni per la misurazione del bianco.

CAUTELA : Nel caso in cui si ripeta la procedura di misurazione del bianco, i risultati attuali saranno cancellati.

CAUTELA : L'apertura e chiusura dell'applicazione NanoQuant non provoca la perdita dei risultati relativi alla misurazione del bianco. Se si scollega lo strumento o si riavvia il software, i risultati esistenti vengono cancellati.

18.1.3 Avvio delle misurazioni

Per ulteriori informazioni, consultare le istruzioni di SparkControl.

NOTA : Tutti i dati relativi ai risultati vengono automaticamente esportati in formato Microsoft Excel.

18.2 Labeling Efficiency App

Per ulteriori informazioni, consultare le istruzioni di SparkControl.

18.3 Protein Quantitation App

NOTA : Lavorando con campioni predefiniti, si calcolerà la concentrazione proteica corrispondente in mol/L. Per ottenere i valori di concentrazione in mg/ml, consultare il capitolo Edit Sample nelle istruzioni di SparkControl.

NOTA : La misurazione individuale dei pozzetti di bianco richiede la misurazione individuale dei pozzetti di bianco di tutti i pozzetti da utilizzare per le misurazioni successive. La correzione del bianco dei campioni viene eseguita utilizzando il singolo valore di bianco del pozzetto corrispondente sulla piastra NanoQuant. Per la misurazione individuale dei pozzetti di bianco, è necessaria la selezione di almeno un pozzetto.

NOTA : I risultati relativi al bianco vengono memorizzati in base ai parametri della misurazione del bianco, alle impostazioni della lunghezza d'onda e al tipo di campione. Se uno di questi parametri viene modificato, la procedura della misurazione del bianco deve essere ripetuta.

18.3.1 Criteri di convalida dei risultati della misurazione del bianco

NOTA : Per la misurazione individuale dei pozzetti di bianco non sono richiesti criteri specifici.

NOTA : Se il valore di soglia definito è stato superato, il sistema fornisce un avviso. La misurazione dei campioni può essere ancora eseguita.

18.3.2 Ripetizione della procedura di misurazione del bianco

NOTA : Ripetere la procedura di misurazione del bianco in caso si ottengano risultati errati oppure se si usano nuovi campioni per la misurazione del bianco.

CAUTELA : Nel caso in cui si ripeta la procedura di misurazione del bianco, i risultati attuali saranno cancellati.

CAUTELA : L'apertura e chiusura dell'applicazione NanoQuant non provoca la perdita dei risultati relativi alla misurazione del bianco. Se si scollega lo strumento o si riavvia il software, i risultati esistenti vengono cancellati.

NOTA : Tutti i dati relativi ai risultati vengono automaticamente esportati in formato Microsoft Excel.

18.4 Manutenzione della piastra NanoQuant

Per ottenere risultati di misurazione ottimali, uno degli elementi più importanti dell'intera procedura di misurazione è la pulizia della piastra NanoQuant. La pulizia può essere effettuata in due modi diversi.

18.4.1 Pulizia con bagno a ultrasuoni

1. Riempire d'acqua il bagno a ultrasuoni e porre all'interno dello stesso un becher adatto riempito con acqua distillata.
2. Accendere il bagno a ultrasuoni, immergere il coperchio della piastra NanoQuant nel becher, facendolo andare su e giù nel liquido per circa 20 secondi. Fare attenzione a non immergere il cardine della piastra.
3. Ripetere l'operazione per il fondo della piastra NanoQuant.
4. Rimuovere dalla piastra NanoQuant tutta l'acqua in eccesso usando aria compressa secca e priva di olio.

18.4.2 Pulizia con salvietta Kimwipe

1. Inumidire una salvietta da laboratorio Kimwipe con alcol etilico al 70% e pulire la superficie interna ed esterna della piastra NanoQuant.
2. Inumidire un panno di cotone o una salvietta Kimwipe con acqua distillata e pulire entrambi i lati di ciascuna lente di quarzo presente sulla piastra NanoQuant.
3. Asciugare il liquido in eccesso con una salvietta Kimwipe asciutta.

Dopo aver terminato la pulizia, conservare la piastra in un luogo pulito e privo di lanugine. Le lenti di quarzo devono essere protette da lanugine e sporcizia e non devono presentare graffi. Eventuali contaminazioni possono essere causa di misurazioni errate. Nel caso in cui sia necessario misurare molti campioni diversi uno dopo l'altro, i pozzetti di quarzo possono essere puliti con una salvietta Kimwipe (bagnata). Le procedure di pulizia e manutenzione sono importanti per prolungare la durata della piastra NanoQuant e per ridurre la necessità di interventi di assistenza. Dopo la pulizia, si consiglia di conservare la piastra NanoQuant nella scatola originale.



CAUTELA : La presenza di lanugine, sporcizia o graffi sulle lenti di quarzo potrebbe alterare sensibilmente i valori OD! Evitare di sporcare i distanziatori, in quanto ciò può modificare la lunghezza del percorso del raggio nella piastra NanoQuant, con conseguente alterazione dei valori OD. Applicare i campioni esclusivamente su lenti di quarzo perfettamente pulite!

19 Conta cellulare in cell chip

Sono disponibili due applicazioni ottimizzate:

- **Calcolo cellule vive (viabilità):** i controlli relativi a conta cellulare e percentuale di cellule vive vengono effettuati simultaneamente con un'unica misurazione. Per verificare la percentuale di cellule vive, bisogna aggiungere Trypan blue in rapporto 1:1 al campione di sospensione cellulare. Questa fase di diluizione viene automaticamente presa in considerazione per il calcolo dei risultati.
- **Conta cellulare:** per eseguire la conta cellulare non è necessario aggiungere additivi alla soluzione cellulare.



CAUTELA : Assicurarsi che la soluzione di Trypan blue sia omogenea. L'eventuale presenza di particelle di colore può alterare l'analisi dei dati.

Si rimanda alle istruzioni di SparkControl per una descrizione dettagliata.



CAUTELA : I cell chip sono dispositivi a perdere e monouso. Non utilizzare i cell chip dopo la data di scadenza impressa sul fondo della confezione.



CAUTELA : Indossare sempre dei guanti prima di maneggiare i cell chip. Per ottenere prestazioni ottimali, evitare contaminazioni o graffi.



CAUTELA : Non usare l'adattatore per cell chip senza prima rimontare le molle! Potrebbero verificarsi errori nella misurazione.



CAUTELA : Prima di iniziare la misurazione, assicurarsi che l'adattatore per cell chip sia inserito correttamente, con l'apertura sul davanti e il pozzetto A1 posto in alto a sinistra.



NOTA : Il tempo necessario per analizzare un'immagine si riduce nel caso di cellule di dimensioni inferiori.



NOTA : Per le concentrazioni cellulari ridotte (inferiori a $5x10^5$ cellule/ml), che implicano un numero limitato di cellule contate per ciascuna immagine, è consigliabile acquisire più immagini per ovviare alla distribuzione irregolare delle cellule e ottenere un conteggio più accurato.



CAUTELA : I dati ricalcolati non vengono salvati automaticamente. Per evitare la perdita dei dati al termine della procedura di ricalcolo, selezionare **Esporta** nella barra delle azioni.

20 Applicazione Cuvette

L’applicazione Cuvette è progettata per le misurazioni di routine dell’assorbanza e del punto finale della scansione in assorbanza eseguite in una cuvetta all’interno di un alloggiamento per cuvette.

Per ulteriori informazioni, consultare le istruzioni di SparkControl.

NOTA : La misurazione di preparazione dello strumento va eseguita ogni volta che si intende iniziare una misurazione con nuovi parametri di misurazione. Assicurarsi che l’alloggiamento per cuvette sia vuoto.

NOTA : Se si seleziona l’opzione **Modifica parametri**, la sessione di misurazione corrente sarà chiusa. La misurazione di preparazione dello strumento dovrà essere ripetuta.

21 Risoluzione dei problemi

21.1 Errori e avvisi di SparkControl

Se un problema non può essere risolto o si ripresenta regolarmente, si consiglia di rivolgersi al rappresentante del servizio di assistenza locale.

Consultare anche questa pagina per ulteriore supporto: https://www.tecan.com/knowledge-portal/microplate-reader#spark-troubleshooting.

Errore	Descrizione	Possibile soluzione/espediente
Errori correlati al dispositivo		
Initialization error for motor 'motor'(errore di inizializzazione per motore "motore")	Guasto all'attuatore durante l'operazione di inizializzazione	Rivolgersi a Tecan. Spegnere e riaccendere il dispositivo e riprovare.
Steploss error for motor 'motor'(errore di perdita passi per motore "motore")	Guasto all'attuatore; controllato dopo la misurazione	Rivolgersi a Tecan (risultati non affidabili). Spegnere e riaccendere il dispositivo e riprovare.
Motor 'motor' not initialized (motore "motore" non inizializzato)	Guasto all'attuatore; controllato prima della misurazione	Rivolgersi a Tecan. Spegnere e riaccendere il dispositivo e riprovare.
Movement position 'position' not found (posizione di corsa "posizione" non trovata)	Posizione logica non trovata; errore di configurazione	Rivolgersi a Tecan
Movement for motor 'motor' timed out! (timeout movimento per motore "motore"!)	Guasto all'attuatore	Rivolgersi a Tecan
Error reading temperature sensor (errore di lettura del sensore di temperatura)	Guasto al sensore di temperatura	Rivolgersi a Tecan
Command 'command' is not valid (comando "comando" non valido)	Errore nel computer - protocollo di comunicazione del dispositivo	Rivolgersi a Tecan
Parameter 'parameter' is missing (parametro "parametro" mancante)	Errore nel computer - protocollo di comunicazione del dispositivo	Rivolgersi a Tecan
Module 'module' with number 'number' had an error|'add. text' (si è verificato un errore|"agg. testo" nel modulo "modulo" con il numero "numero")	Errore del dispositivo (modulo)	Rivolgersi a Tecan

Errore	Descrizione	Possibile soluzione/espediente
Submodule ‘module’ had an error|’add. text’ (si è verificato un errore|”agg. testo” nel sottomodulo “modulo”)	Errore del dispositivo (sottomodulo)	Rivolgersi a Tecan
CAN Receive timeout from Module ‘module’ (timeout ricezione CAN dal modulo “modulo”)	Errore del dispositivo (timeout sul CAN bus)	Rivolgersi a Tecan
CAN communication error (errore di comunicazione del CAN)	Errore del dispositivo (CAN bus)	Rivolgersi a Tecan
SPI timeout (timeout SPI)	Errore del dispositivo (SPI)	Rivolgersi a Tecan
I2C timeout (timeout I2C)	Errore del dispositivo (I2C)	Rivolgersi a Tecan
SCI timeout, Submodule ‘sub-module’ (timeout SCI, sottomodulo “sottomodulo”)	Errore del dispositivo (SCI)	Rivolgersi a Tecan
Injector timeout (timeout iniettore)	Timeout durante la comunicazione con il modulo iniettore	Rivolgersi a Tecan. Spegnere il dispositivo. Controllare i cavi dell’iniettore. Riaccendere il dispositivo e riprovare.
Injector communication error (errore di comunicazione dell’iniettore)	Errore di comunicazione del dispositivo - modulo iniettore	Rivolgersi a Tecan. Spegnere il dispositivo. Controllare i cavi dell’iniettore. Riaccendere il dispositivo e riprovare.
Answer ‘answer’ from internal Command ‘command’ wrong|’add. text’ (risposta “risposta” errata dal comando interno “comando”|”agg. testo”)	Errore del dispositivo	Rivolgersi a Tecan
Buffer ‘buffer’ is out of memory|’add. text’ (il buffer “buffer” ha esaurito la memoria|”agg. testo”)	Errore del dispositivo	Rivolgersi a Tecan
Buffer ‘buffer’ is out of memory|’add. text’ (il buffer “buffer” ha esaurito la memoria|”agg. testo”)	Errore del dispositivo	Rivolgersi a Tecan

Errore	Descrizione	Possibile soluzione/espediente
Sending the data over USB failed ('number' retries) (invio dei dati via USB fallito ("numero" tentativi))	Errore del dispositivo durante l'invio dei dati al computer tramite canale USB	Rivolgersi a Tecan. Spegnere il dispositivo. Controllare i cavi USB. Riaccendere il dispositivo e riprovare. Se l'errore è correlato a un eccessivo traffico dati su USB o a un sovraccarico del computer, provare a chiudere le altre applicazioni.
Errori correlati alla comunicazione (da computer a dispositivo)		
Not able to connect to the communication service (impossibile connettersi al servizio di comunicazione)	Non è possibile connettersi al servizio	Spegnere e riaccendere il dispositivo. Riavviare i servizi facendo clic con il tasto destro del mouse sull'icona della barra delle applicazioni "SPARKCONTROL Agent" (menu contestuale) e selezionando "Riavvia servizi"
Lost connection to Instrument Server. Terminate application (Connessione al server Strumenti assente. Chiudi applicazione)	Nessuna connessione del dispositivo	Chiudere l'applicazione (dashboard o editor di metodo). Spegnere e riaccendere il dispositivo. Riavviare i servizi facendo clic con il tasto destro del mouse sull'icona della barra delle applicazioni "SPARKCONTROL Agent" (menu contestuale) e selezionando "Riavvia servizi"
No instrument found (nessuno strumento trovato)	Dispositivo assente	Accendere il dispositivo
Instrument not free (strumento non libero)	Dispositivo bloccato da un altro processo	Assicurarsi che il dispositivo non sia in uso per un altro programma. Eventualmente riavviare il computer.
Instrument could not be acquired (impossibile acquisire lo strumento)	Dispositivo bloccato da un altro processo	Assicurarsi che il dispositivo non sia in uso per un altro programma. Eventualmente riavviare il computer.
Instrument is busy (lo strumento è occupato)	Dispositivo occupato	Attendere che il dispositivo si liberi.
Error occurred: 'command' (si è verificato un errore: "comando")	Il dispositivo segnala un errore in "comando"	Rivolgersi a Tecan
Unexpected message received: 'response' (messaggio inaspettato: "risposta")	Risposta inaspettata dal dispositivo	Rivolgersi a Tecan

Errore	Descrizione	Possibile soluzione/espediente
Unexpected response format: ‘response’ (formato risposta inaspettato: ”risposta”)	Rilevato un formato risposta inaspettato	Rivolgersi a Tecan
Checksum mismatch in received command (mancata corrispondenza della somma di controllo nel comando ricevuto)	Somma di controllo del messaggio di risposta del dispositivo non corretta	Rivolgersi a Tecan
No configuration found (nessuna configurazione trovata)	Il dispositivo non è configurato correttamente	Rivolgersi a Tecan
Errori correlati alla misurazione		
Instrument has no lid lifter defined (nessun Lid Lifter definito per lo strumento)	Il dispositivo non è configurato correttamente	Rivolgersi a Tecan
Optimal Gain could not be found (guadagno ottimale non trovato)	Impossibile trovare il guadagno ottimale	Impostare il guadagno manualmente
Strongest well signal could not be found (segnale di maggiore intensità non trovato)	Impossibile trovare il guadagno ottimale	Impostare il guadagno manualmente
Signal too low. Gain could not be calculated (Segnale troppo basso. Impossibile calcolare il guadagno)	Impossibile trovare il guadagno ottimale	Impostare il guadagno manualmente
Unable to find optimal Z-position after n retries (impossibile trovare posizione Z ottimale dopo n tentativi)	Impossibile trovare la posizione Z ottimale	Impostare la posizione Z manualmente
No reference blank selected (nessun bianco di riferimento selezionato)	Nessun pozzetto con bianco di riferimento selezionato per la misurazione FP	Selezionare pozzetto con bianco di riferimento
Blank well ‘Id’ is not selected in the Plate strip (l’”Id” del pozzetto di bianco non è selezionato nella striscia Piastra)	Nessun pozzetto con bianco di riferimento selezionato per la misurazione FP	Selezionare pozzetto con bianco di riferimento
No reference well selected (nessun pozzetto di riferimento selezionato)	Nessun pozzetto di riferimento selezionato per la misurazione FP	Selezionare pozzetto di riferimento
Signal well ‘Id’ is not selected in the Plate strip (l’”Id” del pozzetto di segnale non è selezionato nella striscia Piastra)	Nessun pozzetto di segnale selezionato per la misurazione FP	Selezionare pozzetto di segnale

Errore	Descrizione	Possibile soluzione/espediente
Signal of reference well to low, choose another one (segnale del pozzetto di riferimento troppo basso, sceglierne un altro)	Segnale del pozzetto di riferimento troppo basso	Selezionare un altro pozzetto
Invalid G-Factor, signal of reference well is too low (fattore G non valido, il segnale del pozzetto di riferimento è troppo basso).	Impossibile determinare il fattore G	Scegliere un altro pozzetto
Dark counts too high (conteggi di buio troppo alti)	Conteggi di buio troppo alti	Rivolgersi a Tecan
Dark value too high: Darkvalue='value', Limit='limit' (valore di buio troppo alto: valore buio="valore", limite="limite")	Conteggi di buio troppo alti	Rivolgersi a Tecan
Lid Check error (errore controllo coperchio)	Errore di controllo del coperchio	Troppa luce nel dispositivo (proveniente dall'esterno o dal campione)
The lid check had an error! (Si è verificato un errore di controllo del coperchio!) Value='value', Limit='limit' (valore="valore", limite="limite")	Errore di controllo del coperchio	Troppa luce nel dispositivo (proveniente dall'esterno o dal campione)
Low 'add. Text' signal error (errore segnale "agg. testo" basso)	Errore lampada bassa (o segnale troppo basso)	Rivolgersi a Tecan. Spegnere e riaccendere il dispositivo e riprovare.
'Add. Text' signal overflow error (errore di overflow segnale "agg. testo")	Errore di overflow segnale	Troppo segnale; potrebbe essere un errore del dispositivo. Oppure: troppo segnale dal campione (ridurre il guadagno)
Cancel of method failed (annullamento del metodo non riuscito)	Impossibile fermare la misurazione	Riprovare
Pause of method failed (pausa del metodo non riuscita).	Impossibile mettere in pausa il metodo (cinetico)	Riprovare; rivolgersi a Tecan.
Method can't be started because method 'method' is still pending on instrument 'device' (il metodo non può essere avviato perché il metodo "metodo" è ancora in corso sullo strumento "dispositivo").	Impossibile avviare un metodo perché un altro è ancora in corso	Attendere che il dispositivo sia libero

Errore	Descrizione	Possibile soluzione/espediente
Method can't be started because instrument 'device' is in use (il metodo non può essere avviato perché lo strumento "dispositivo" è in uso).	Impossibile avviare un metodo perché il dispositivo è in uso	Attendere che il dispositivo sia libero
Error occurred executing method 'method' (si è verificato un errore durante l'esecuzione del metodo "metodo")	Un errore non meglio specificato si è verificato durante l'esecuzione di un metodo	Riprovare; rivolgersi a Tecan.
Lid already taken (coperchio già agganciato)	Coperchio già agganciato dal Lid Lifter	Estrarre e reinserire nuovamente la piastra
Autofocus Error: No peak found! (errore messa a fuoco automatica: nessun picco rilevato!)	Errore dell'applicazione/del dispositivo	Controllare la piastra o rivolgersi a Tecan
Errori generici		
Database doesn't exists! (Database inesistente!)	Impossibile aprire il database	Reinstallare il programma
WCF call failed after 'n' retries (chiamata WCF fallita dopo "n" tentativi)	Si è verificato un errore non meglio specificato durante l'invio di un messaggio dal dashboard o dall'editor di metodo al server	Chiudere l'applicazione (dashboard o editor di metodo). Spegnere e riaccendere il dispositivo. Riavviare i servizi facendo clic con il tasto destro del mouse sull'icona della barra delle applicazioni "SPARKCONTROL Agent" (menu contestuale) e selezionando "Riavvia servizi"
Not able to find given printer (impossibile trovare la stampante selezionata)	Impossibile trovare la stampante selezionata	Controllare le impostazioni della stampante
There is not enough memory available for image processing (la memoria disponibile non è sufficiente per elaborare immagini)	Errore di allocazione della memoria durante l'elaborazione dell'immagine	Chiudere le altre applicazioni. Dotare il computer di una memoria più ampia
Memory allocation failed (allocazione di memoria fallita)	Errore di allocazione della memoria durante l'acquisizione o l'elaborazione dell'immagine	Chiudere le altre applicazioni. Dotare il computer di una memoria più ampia

Errore	Descrizione	Possibile soluzione/espediente
Imaging Server not found (server di imaging non trovato)	Impossibile collegarsi al server di imaging	Chiudere l'applicazione (dashboard o editor di metodo). Spegnere e riaccendere il dispositivo. Riavviare i servizi facendo clic con il tasto destro del mouse sull'icona della barra delle applicazioni "SPARKCONTROL Agent" (menu contestuale) e selezionando "Riavvia servizi"
The PDFX directory: 'directory' doesn't exist (la directory PDFX: "directory" è inesistente)	La directory dei file di definizione piastra è inesistente (o non accessibile)	Reinstallare il programma
Camera initialization failed (inizializzazione fotocamera fallita)	Impossibile inizializzare il modulo fotocamera	Chiudere l'applicazione (dashboard o editor di metodo). Spegnere e riaccendere il dispositivo. Riavviare i servizi facendo clic con il tasto destro del mouse sull'icona della barra delle applicazioni "SPARKCONTROL Agent" (menu contestuale) e selezionando "Riavvia servizi". Se il problema persiste, rivolgersi a Tecan.
Instrument 'device' is defective (lo strumento "dispositivo" è difettoso).	Rilevato dispositivo difettoso	Rivolgersi a Tecan
Errori correlati all'iniettore		
Injector carrier is inserted (il supporto iniettori è inserito)	Il supporto iniettori è inserito (ma non dovrebbe esserlo)	Rimuovere il supporto iniettori
Injector carrier is not inserted (il supporto iniettori non è inserito)	Il supporto iniettori non è inserito (ma dovrebbe esserlo)	Inserire il supporto iniettori
Plate is not inserted (la piastra non è inserita)	Nessuna piastra rilevata	Inserire piastra
The injection volume would be greater than the maximum capacity of the wells of the selected microplate. Injection aborted. (Il volume d'iniezione sarebbe più grande della capacità massima dei pozzetti della micropiastra selezionata. Operazione d'iniezione annullata).	Volume di riempimento troppo elevato	Ridurre il volume

Errore	Descrizione	Possibile soluzione/espediente
Injection is not possible with a plate cover (l'operazione di iniezione non è possibile se la piastra ha il coperchio)	Operazione d'iniezione impossibile	Rimuovere il coperchio della piastra (e regolare le impostazioni nella striscia Piastra)
Injector 'injector' is not primed. Please prime the injector (Non è stato eseguito il priming dell'iniettore "iniettore". Eseguire il priming dell'iniettore).	Non è stato eseguito il priming dell'iniettore	Eseguire il priming dell'iniettore prima dell'uso
Errori correlati al filtro		
Filter 'filter' - Maximum characters of filter description is 'n' (filtro "filtro" - il numero massimo di caratteri per la descrizione del filtro è "n")	Descrizione del filtro troppo lunga	Ridurre la lunghezza del testo
Maximum characters of filter slide description is 'n' (il numero massimo di caratteri per la descrizione della slitta dei filtri è "n")	Descrizione del filtro troppo lunga	Ridurre la lunghezza del testo
Filter 'filter' - Bandwidth must be in the range of 5 - 100 nm (filtro "filtro" - la larghezza di banda deve essere compresa tra 5 e 100 nm)	Larghezza di banda fuori dall'intervallo previsto	Definire la larghezza di banda corretta
Filter 'filter' - Wavelength must be in the range of 230 – 900 nm (filtro "filtro" - la lunghezza d'onda deve essere compresa tra 230 – 900 nm)	Lunghezza d'onda fuori dall'intervallo previsto	Definire la lunghezza d'onda corretta
Defined filter was not found (il filtro definito non è stato trovato).	Il filtro richiesto non è stato trovato	Montare il filtro richiesto sulla slitta dei filtri
Filter not found 'filter'(Filtro non trovato "filtro")	Il filtro richiesto non è stato trovato	Montare il filtro richiesto sulla slitta dei filtri
Filter 'filter' not inserted! (Filtro "filtro" non inserito!)	Filtro richiesto non inserito	Inserire filtro corretto
Defined mirror was not found (lo specchio definito non è stato trovato).	Lo specchio non è stato trovato	Rivolgersi a Tecan (se il filtro è definito dall'utente: montare e definire lo specchio corretto)

Errore	Descrizione	Possibile soluzione/espediente
Errori relativi allo Spark-Stack		
Input magazine is empty (il caricatore INPUT è vuoto)	Al momento di avviare una misurazione con impilatore, non sono presenti piastre nel caricatore INPUT.	Inserire la piastra/le piastre nel caricatore INPUT prima di dare il via a una misurazione con impilatore. Riavviare la misurazione con impilatore.
Output magazine is not empty (il caricatore OUTPUT non è vuoto)	Al momento di avviare una misurazione con impilatore, risulta la presenza di una piastra nel caricatore OUTPUT.	Rimuovere la piastra dal caricatore OUTPUT. Riavviare la misurazione con impilatore
Plate carrier is not empty (il vano porta-piastre non è vuoto)	Il vano porta-piastre deve essere vuoto al momento di avviare una misurazione con impilatore.	Rimuovere la piastra dal vano porta-piastre. Riavviare la misurazione con impilatore
Start of method as stacker run not possible (impossibile avviare il metodo come misurazione con impilatore)	Non sono stati inseriti alcuni caricatori, oppure un caricatore è inclinato.	Installare correttamente il caricatore INPUT (con piastre) e il caricatore OUTPUT (senza piastre). Premere il caricatore verso il basso fin quando non scatta in posizione.
No plate detected during stacker run in input magazine or for restacking in output magazine. (durante la misurazione con impilatore, non sono state rilevate piastre nel caricatore INPUT o piastre destinate al rimpilamento nel caricatore OUTPUT). (Error:...Stacker get/stack magazine_Input/Output …) (errore:...impilatore/ caricatore impilamento_Input/Output)	Non c'è alcuna piastra sul sollevatore dell'impilatore o sul porta-piastre.	Rivolgersi a Tecan. Spegnere lo strumento. Rimuovere i caricatori INPUT e OUTPUT. Se necessario, rimuovere la piastra dal sollevatore dell'impilatore. Estrarre il vano porta-piastre dal lettore SPARK e, se necessario, rimuovere la micropiastra. Reinserire il vano porta-piastre vuoto nel lettore SPARK. Caricare nuovamente i caricatori sullo Spark-Stack. Assicurarsi che le micropiastre non siano danneggiate. Riavviare la misurazione con impilatore.

Errore	Descrizione	Possibile soluzione/espediente
Initialization error (errore di inizializzazione) Steploss error (errore di perdita di passi)	Guasto all'attuatore durante l'operazione di inizializzazione dell'impilatore.	Rivolgersi a Tecan. Spegnere lo strumento. Rimuovere i caricatori INPUT e OUTPUT. Se necessario, rimuovere la piastra dal sollevatore dell'impilatore. Estrarre il vano porta-piastre dal lettore SPARK e, se necessario, rimuovere la micropiastra. Reinserire il vano porta-piastre vuoto nel lettore SPARK. Caricare nuovamente i caricatori sullo Spark-Stack. Riavviare la misurazione con impilatore.
Power Failure (interruzione di alimentazione)	L'alimentazione di corrente si è interrotta	Rivolgersi a Tecan. Spegnere lo strumento. Rimuovere i caricatori INPUT e OUTPUT. Se necessario, rimuovere la piastra dal sollevatore dell'impilatore. Nel momento in cui viene ripristinata l'alimentazione: estrarre il vano porta-piastre dal lettore SPARK e, se necessario, rimuovere la micropiastra. Reinserire il vano porta-piastre vuoto nel lettore SPARK. Caricare nuovamente i caricatori sullo Spark-Stack. Riavviare la misurazione con impilatore.
Stacker communication error (errore di comunicazione dell'impilatore)	Impossibile collegarsi all'impilatore; nessuna comunicazione con l'impilatore.	Chiudere l'applicazione (dal dashboard o dall'editor di metodo). Spegnere e riaccendere il dispositivo. Riavviare i servizi. Consultare il capitolo 21.2 Spark Services Manager.

21.2 Spark Services Manager

Il Spark Services Manager si trova nell'area di notifica di Microsoft Windows. L'area di notifica offre agli utenti un accesso rapido alle funzioni di sistema come rete, volume, stato della batteria e al Spark Services Manager di Tecan.

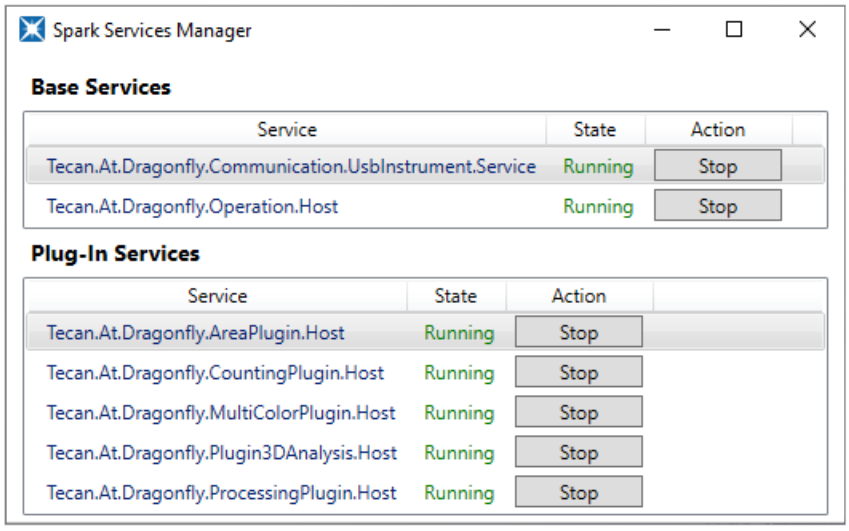
In Windows 10 e Windows 11, l'area di notifica si trova tipicamente sul lato destro della barra delle applicazioni:



Figura 33: Esempio di Spark Services Manager

Fare clic con il tasto destro del mouse sull'icona di SparkControl per aprire il menu, quindi seleziona Spark Services Manager:





I servizi possono essere avviati o arrestati manualmente secondo necessità.

Indice alfabetico

A

Accensione dello strumento 29
Agitazione 36
Applicazione Cuvette 179
Applicazione NanoQuant 173
applicazioni per conta cellulare in cell chip 177
Applicazioni Standard 118

B

Barra delle azioni 57
Barra di navigazione 57
Blocchi di trasporto
  Rimozione 27

C

Cell Chip 107
Cell Imager 113
Certificato di sicurezza 46
confluenza cellulare 107
conta cellulare 107
Controllo della piastra 35
controllo gas 160
Controllo qualità
  assorbanza 84, 150
  luminescenza 67
correzione della lunghezza del percorso 82

D

Dashboard 56
Disimballaggio e ispezione 24
Disinfezione
  Certificato di sicurezza 46
  Procedura 46
  Strumento 45

F

fotocamera 29
Fuoriuscite 44
Fuoriuscite di liquidi 44

H

humidity cassette 167

I

ImageAnalyzer 122
Imaging in campo chiaro 113
Imaging in fluorescenza 113, 115
  ImageAnalyzer 122
Imballaggi secondari 25
Impostazioni SparkControl 62
Inject and Read (Iniettare e Leggere) 94
Intervallo di tensione 29
IoT Client 52

L

Lid Lifter 36
Live Viewer 109

M

Manutenzione
  Strumento 43
Materiale d'imballaggio
  restituzione 47
  smaltimento 47
Metodo
  Avvio 61
Modulo di intensità di fluorescenza 87
Modulo fluorescenza Fondo 87
Modulo per luminescenza/avanzato 65
Modulo per luminescenza/standard 65
Modulo polarizzazione di fluorescenza 93
Multifunzionalità 14

P

percentuale di cellule vive 107
Percorsi di navigazione 57
Plugin di analisi 125
Porta-piastre
  Blocco di trasporto 27
Posizione di incubazione 36, 153, 171
Posizione Z 36
Precauzioni di sicurezza 11
Profilo utente 13
Pulizia e manutenzione 43
Pulsante Espandi 57
Pulsanti di azione 57
  Espandibili 57
Pulsanti di controllo integrati nello strumento 19

R

Requisiti di alimentazione 29
Requisiti di sistema 49
Riquadri 57
Risultati della misurazione 63

S

Scansione in assorbanza 79
Sistema di assorbanza 79
sistema di raffreddamento 154
Smaltimento
  Materiale d'imballaggio 47
  Strumento 48
Smooth mode 17
Software
  Avvio 52
  Disinstallazione/Ripristino 51
  Installazione 51
  Requisiti di sistema 49
Soluzioni per la procedura di disinfezione 45
Spark Services Manager 191
Spark-Stack 127, 139, 140
Specifiche 41
Specifiche dell'iniettore 149
Specifiche di luminescenza 66
Spedizione dello strumento 31
Strumento
  Accensione 29
  Certificato di sicurezza 46

Decontaminazione/disinfezione 45
Disimballaggio e ispezione 24
Installazione 24
Preparazione per la spedizione 31
Procedura di disinfezione 46
Requisiti di alimentazione 29
Soluzioni per la procedura di disinfezione 45
Specifiche 41

V

Vista posteriore 21

Assistenza clienti Tecan

Se avete domande sui prodotti Tecan o necessitate di assistenza tecnica, contattate il centro assistenza Tecan locale. Visitate: http://www.tecan.com/customersupport per trovare le informazioni di contatto.

Prima di contattare il servizio assistenza Tecan, preparate le seguenti informazioni, per consentirci di fornirvi assistenza tecnica al meglio delle nostre possibilità (vedere targhetta di identificazione):

- modello del vostro prodotto
- numero di serie (SN) del vostro prodotto
- tipo di software e versione del software (se applicabile)
- descrizione del problema e persona di contatto
- data e orario in cui si è verificato il problema
- azioni che avete già intrapreso per risolvere il problema
- le vostre informazioni di contatto (numero di telefono, fax, indirizzo e-mail, ecc.)

TECAN AUSTRIA GMBH, Untersbergstrasse 1a, A-5082 Grödig / Salzburg, Austria
T +43 62 46 89 33, F +43 62 46 72 770, office.austria@tecan.com, www.tecan.com

Declaration of Conformity

We, TECAN Austria GmbH herewith declare under our sole responsibility that the product identified as:

Product Type: **Microplate Reader**
Model Designation: **SPARK**

Article Numbers: **30086376**

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.