

Compteur automatisé de cellules Countess™ II FL

Référence AMQAF1000

Numéro de publication MAN0017650

Révision A.0

Les informations contenues dans ce document peuvent être modifiées sans préavis.

CLAUSE DE NON-RESPONSABILITÉ

DANS LA MESURE PERMISE PAR LA LOI, THERMO FISHER SCIENTIFIC ET/OU SA OU SES FILIALE(S) NE SAURAIENT ÊTRE TENUES RESPONSABLES DE DOMMAGES SPÉCIAUX, ACCESSOIRES, INDIRECTS, PUNITIFS, MULTIPLES OU CONSÉCUTIFS LIÉS AU PRÉSENT DOCUMENT OU À SON USAGE OU EN RÉSULTANT.


Traduit de l'anglaise Pub. N° MAN0010644 Rév. D.0

Historique des révisions MAN0010644

Révision	Date	Description
D.0	30 juin 2017	Ajout d'informations sur l'indicateur de profil révisé, la sauvegarde du profil à partir de l'écran de résultats, le calculateur de dilution et les rapports.
C.0	01 septembre 2015	Suppression des instructions pour Countess II, mise à jour de l'interface utilisateur pour la nouvelle version SW, changement d'image
B.0	12 décembre 2014	Spécification technique correcte concernant la taille des cellules
A.0	08 septembre 2014	Nouveau guide de l'utilisateur

Informations de licence importantes

Ces produits peuvent ou non être soumis à une ou plusieurs Licences à usage limité. En utilisant ces produits, l'acquéreur accepte les conditions générales de toutes les Licences à usage limité.

 **Fabricant :** Life Technologies Corporation | 22025 20th Ave SE | Bothell, WA 98021

Marques de commerce : sauf mention contraire, toutes les marques appartiennent à Thermo Fisher Scientific et à ses filiales. Cy est une marque déposée de GE Healthcare UK Limited.

© 2017 Thermo Fisher Scientific Inc. Tous droits réservés.

Table des matières

À propos de ce guide.....	5
1. Informations produit	7
Contenu du produit	7
Description du produit	8
Composants extérieurs de l'instrument	9
2. Démarrage	10
Installation.....	10
Charger le profil.....	12
Préparer les échantillons	18
Fonctionnement des lames.....	20
3. Comptage et analyses de viabilité des cellules.....	22
Comptage de cellules en champ lumineux	22
Affichage des résultats.....	25
Objets identifiés comptés.....	26
Graphique des résultats de comptage	27
Borner les résultats de comptage.....	28
Enregistrer en tant que nouveau protocole.....	29
4. Analyses de fluorescence	31
Comptage de cellules par fluorescence	31
Affichage des résultats.....	35
Objets identifiés comptés.....	36
Graphique des résultats de comptage	37
Borner les résultats de comptage.....	39
Enregistrer en tant que nouveau protocole.....	41
5. Calculateur de dilution.....	43
Calculer la dilution.....	43
6. Enregistrer les résultats.....	46
Enregistrer les résultats de comptage	46
Rapport	49
7. Paramètres de l'instrument.....	51
Présentation.....	51
Mise à jour du logiciel.....	52
Date/heure	53
Remplacer le cube de lumière.....	55
8. Maintenance	57
Entretien de l'instrument.....	57
Nettoyer le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL	58
Régler la mise au point nominale.....	59

Annexe A : Résolution des problèmes	61
Annexe B : Spécifications du produit	64
Spécifications techniques.....	64
Cubes de lumière EVOS™	65
Annexe C : Informations de commande	66
Compteur automatisé de cellules Countess™ II FL et ses accessoires	66
Produits accessoires	66
Annexe D : Format de fichier CSV	67
Explication relative au format de fichier CSV	67
Annexe E : Sécurité.....	71
Conventions de sécurité utilisées dans ce document	71
Symboles sur les instruments	72
Étiquettes de sécurité sur les instruments.....	74
Sécurité générale de l'instrument.....	75
Sécurité chimique	77
Sécurité des déchets chimiques	78
Sécurité électrique	79
Sécurité en matière de risques biologiques.....	80
Normes de sécurité et de compatibilité électromagnétique (CEM).....	81
Documentation et support	82
Assistance	82

À propos de ce guide

Public visé Le présent guide de l'utilisateur est destiné au personnel de laboratoire qui utilise, assure la maintenance et analyse les données à l'aide du compteur automatisé de cellules Countess™ II FL.

Documentation destinée à l'utilisateur Les guides répertoriés ci-dessous sont disponibles pour le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL.

Guide	Pub. n°
<i>Guide de l'utilisateur du compteur automatisé de cellules Countess™ II FL</i>	MAN0010644
<i>Carte de référence rapide (CRR) des compteurs automatisés de cellules Countess™ II et Countess™ II FL</i>	MAN0010826

D'autres ressources sont disponibles sur la page de ressources technique de Countess™. Consulter www.thermofisher.com/countess pour accéder aux protocoles, notes d'application et tutoriels.

Conventions relatives au texte et au clavier Les conventions relatives au texte et au clavier utilisées dans ce guide de l'utilisateur sont répertoriées ci-dessous. Pour voir les termes et symboles d'alerte à la sécurité utilisés dans ce document, aller page 6.

Convention	Utilisation
Gras	Le texte en gras indique une action de l'utilisateur. Par exemple : appuyer sur la touche More (Plus).
►	Une flèche vers la droite (►) indique un choix de menus et sépare des commandes successives à sélectionner dans un menu déroulant ou un ensemble de raccourcis. Par exemple : sélectionner More ► Adjust (Plus ► Ajuster).

Mises en garde à l'attention de l'utilisateur Deux termes de mises en garde apparaissent dans ce document. Chaque terme implique un degré de mise en garde ou l'une des actions décrites ci-dessous.



Remarque : fournit des informations susceptibles d'intéresser ou d'aider l'utilisateur, qui ne sont pas critiques à l'utilisation du produit.



IMPORTANT ! Fournit des informations nécessaires au bon fonctionnement de l'instrument, à une installation précise ou à la manipulation d'un produit chimique en toute sécurité.

Termes d'alerte à la sécurité

Quatre termes d'alerte à la sécurité apparaissent dans ce document. Ils sont insérés à des endroits spécifiques pour attirer l'attention du lecteur sur des risques importants. Chaque terme d'alerte — **IMPORTANT**, **ATTENTION**, **AVERTISSEMENT**, **DANGER** — implique un degré de mise en garde ou une action spécifique :



IMPORTANT ! – Fournit des informations nécessaires au bon fonctionnement de l'instrument, à une installation précise ou à la manipulation d'un produit chimique en toute sécurité.



ATTENTION ! – Indique une situation potentiellement dangereuse qui peut provoquer des blessures mineures ou modérées si elle n'est pas évitée. Ce message peut aussi servir de mise en garde contre les pratiques dangereuses.



AVERTISSEMENT ! – Indique une situation potentiellement dangereuse qui pourrait provoquer des blessures mortelles ou sérieuses si elle n'est pas évitée.



DANGER ! – Indique une situation dangereuse imminente qui provoquera des blessures mortelles ou sérieuses si elle n'est pas évitée. Cette mise en garde doit être limitée aux situations les plus extrêmes.

À l'exception du terme **IMPORTANT!**, chaque terme d'alerte à la sécurité présent dans le présent document est accompagné d'un panneau triangulaire contenant un symbole de danger. Ces symboles sont identiques à ceux apposés sur les instruments (voir « **Symboles de sécurité** » à l'annexe E).

1. Informations produit

Contenu du produit

Le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL est expédié avec les composants suivants.

Composant	Quantité
Compteur automatisé de cellules Countess™ II FL (Réf. AMQAF1000)	1 chacun
Cordon d'alimentation avec 4 cordons adaptateurs (pour États-Unis/Canada/Taiwan/Japon, Europe ou R-U)	1 chacun
Lames de comptage de cellules à chambres Countess™ (50 lames/boîte)	1 boîte
Porte-lames jetable Countess™ II FL	1 chacun
Porte-lames réutilisable Countess™ II FL	1 chacun
Outil de retrait du cube de lumière Countess™ II FL	1 chacun
Clé USB Countess™ II	1 chacun
Carte de référence rapide du compteur automatisé de cellules Countess™ II FL	1 chacun

À réception de l'instrument

Inspecter soigneusement l'instrument pour s'assurer qu'il n'a pas été endommagé au cours de l'expédition. Vérifier que tous les composants de l'instrument, y compris les accessoires répertoriés ci-dessus, sont présents avec le produit. Toute réclamation pour dommage doit être effectuée auprès du transporteur ; la garantie ne couvre pas les dommages dus au transport.

Voir les instructions d'installation de l'instrument page 10.

Enregistrer l'instrument

Rendez-vous à l'adresse www.thermofisher.com/registercountess pour enregistrer l'instrument. Vous serez invité à fournir le numéro de série de l'instrument, votre nom et vos coordonnées. En enregistrant votre instrument, vous êtes assuré de recevoir les notifications de mise à jour du logiciel et les informations sur les nouvelles expériences d'utilisation du compteur automatisé de cellules Countess™ II FL.

Description du produit

Compteur automatisé de cellules Countess™ II FL

Le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL est un compteur de cellules entièrement automatisé à 3 canaux avec plate-forme d'analyse qui utilise la technologie du cube de lumière EVOS™, des éléments optiques de pointe et des algorithmes d'analyse d'images pour analyser des cellules marquées par fluorescence bleue ou des échantillons en suspension colorés au bleu de trypan.

- Le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL offre une interface utilisateur intuitive et permet d'enregistrer les données et de générer un rapport qui peut ensuite être transféré vers un PC à l'aide de la clé USB fournie avec l'instrument ou disponible séparément.
- Les cellules à compter sont chargées dans l'instrument soit sur des lames de comptage de cellules à chambres Countess™ soit sur des lames en verre réutilisables Countess™ II FL (page 18). Chaque lame contient deux chambres fermées pour contenir l'échantillon et vous permettre de mesurer deux échantillons différents ou d'effectuer des répliquats du même échantillon.
- L'instrument requiert 10 secondes par échantillon pour une numération cellulaire classique dans le canal à champ lumineux et est compatible avec une large variété de cellules eucaryotes. En plus du comptage et des informations sur la viabilité des cellules, le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL fournit également des informations sur la taille des cellules.
- Outre le canal à champ lumineux, le compteur de cellules automatisé Countess™ II FL peut accueillir deux cubes de lumière fluorescente interchangeables EVOS™ (page 65), ce qui lui permet d'être utilisé pour des tâches de recherche à fluorescence multiple.
- Lorsqu'il est équipé des cubes de lumière EVOS™, le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL peut être utilisé pour réaliser des analyses de fluorescence des cellules en suspension, y compris le comptage simultané de cellules colorées avec deux colorants fluorescents différents, l'expression GFP et RFP, l'apoptose et la viabilité cellulaire, (cellules vivantes, mortes et nombre total). Ces analyses sont compatibles avec une grande variété de cellules eucaryotes.

Composants extérieurs de l'instrument



- ① **Écran tactile** : l'écran tactile capacitif 7 pouces est l'interface utilisateur principale du compteur automatisé de cellules Countess™ II FL. Il comporte les touches de toutes les fonctions de l'instrument et affiche les données relatives au nombre de cellules.
- ② ⑦ **Ports USB** : permettent de transférer et d'enregistrer les données relatives au nombre de cellules sur un ordinateur externe afin d'en garder une trace et de les imprimer. Vous pouvez utiliser la clé USB fournie avec l'instrument ou toute autre clé USB standard au format FAT32 pour transférer les données. Si vous le souhaitez, vous pouvez brancher une souris USB sur le port USB arrière pour contrôler l'instrument.
Remarque : les ports USB situés à l'avant et à l'arrière de l'instrument fonctionnent de la même façon. Cependant la première clé USB connectée sera l'emplacement de sauvegarde privilégié ; il n'est pas possible d'accéder en même temps aux deux clés USB.
- ③ **Port de lame** : le port de lame sert à insérer dans le compteur la lame d'analyse contenant l'échantillon. L'instrument Countess™ II FL est compatible avec les lames de comptage de cellules à chambres Countess™ jetables et avec les lames réutilisables en verre Countess™ II FL grâce à des supports spécifiques aux lames. Pour plus d'informations, consulter « Fonctionnement des lames », page 20.
- ④ **Panneau arrière** : le panneau arrière du compteur automatique de cellules Countess™ II FL permet d'accéder aux cubes de lumière EVOS™ en option et offre un espace de rangement à l'outil du cube de lumière ainsi qu'au support de lame réutilisable. Le panneau arrière est fixé à l'instrument au moyen de deux fixations 1/4 de tour intégrées.
- ⑤ **Interrupteur d'alimentation** : l'interrupteur à bascule ON/OFF est le principal interrupteur d'alimentation. Il n'est pas nécessaire d'utiliser l'interrupteur d'alimentation pour le fonctionnement quotidien de l'instrument.
- ⑥ **Cubes de lumière EVOS™** : les cubes de lumière EVOS™ permettent au compteur automatisé de cellules Countess™ II FL d'analyser les échantillons marqués par fluorescence. Le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL peut accueillir deux cubes de lumière fluorescente. Pour plus d'informations, voir « Cubes de lumière EVOS™ », page 65.
- ⑧ **Prise d'alimentation** : la prise d'alimentation connecte l'instrument à une prise de courant via le cordon d'alimentation fourni et la fiche appropriée, selon la configuration du pays concerné.

2. Démarrage

Installation

Environnement d'exploitation

- Placer l'instrument sur une surface plane loin des vibrations provenant d'autres appareils.
- Laisser un espace libre d'au moins 5 cm (2 po) à l'arrière de l'instrument pour permettre une ventilation adéquate et éviter la surchauffe des composants électroniques.
- Installer l'appareil loin des sources de lumière directe, telles que les fenêtres. L'éclairage ambiant de la pièce peut pénétrer dans le trajet d'imagerie et affecter la qualité de l'image.
- Plage de température de fonctionnement : 4–32 °C (40–90 °F).
- Plage d'humidité relative : < 80 %.



IMPORTANT ! Placer l'instrument de telle sorte que l'interrupteur principal situé à l'arrière de l'instrument soit facile d'accès (page 9).

En cas de dysfonctionnement de l'instrument, mettre l'interrupteur d'alimentation principal en position **OFF** (ARRÊT) et débrancher l'appareil de la prise murale.

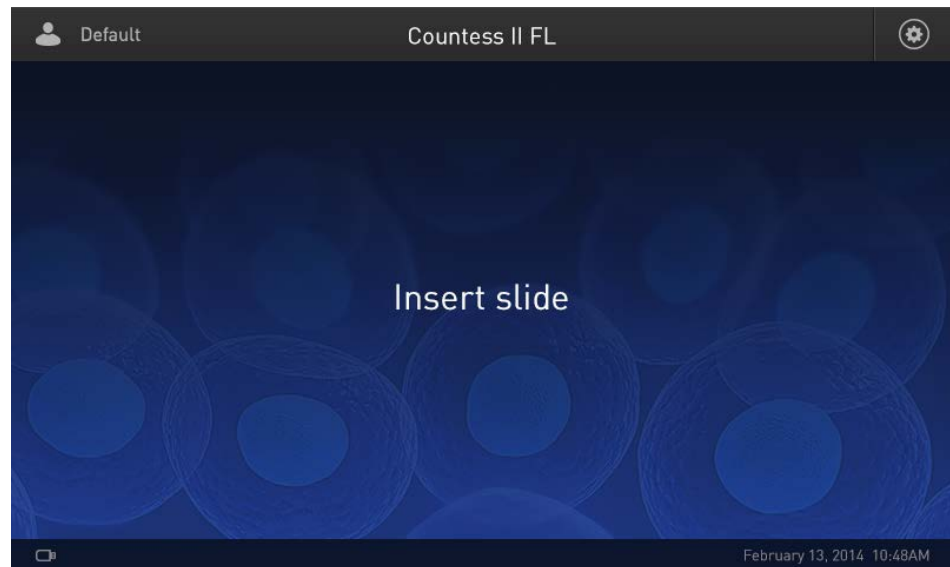
Installer l'instrument

1. Déballer l'instrument et le placer sur une surface plane horizontale et sèche.
2. Retirer le fin film protecteur en plastique de l'écran tactile.
3. Brancher une extrémité du cordon d'alimentation adapté à votre pays dans l'instrument.
4. Brancher le cordon d'alimentation dans la prise de courant. Utiliser uniquement le cordon d'alimentation fourni avec l'instrument. Alimenter l'instrument avec un cordon d'alimentation non autorisé pourrait endommager l'instrument.

Allumer l'instrument


1. Allumer l'instrument en plaçant l'**interrupteur d'alimentation** situé à l'arrière de l'instrument (page 9) en position **ON (MARCHE)**.

L'instrument s'initialise et affiche l'écran **Home** (Accueil).




2. À partir de l'écran **Home** (Accueil), vous pouvez passer immédiatement aux analyses en insérant une lame (page 22).

Il est également possible de modifier ou d'ajouter un profil (étape 3) ou de changer les paramètres de l'instrument (étape 4).

3. Pour modifier le profil actuel ou ajouter un nouveau profil, appuyer sur la touche **Profiles** (Profils) dans le coin supérieur gauche. 

Les profils vous permettent de créer des préférences de comptage personnalisées (c.-à-d. comptages bornés selon la taille, la luminosité, la circularité et/ou l'intensité de fluorescence relative des cellules) (page 12).

4. Pour changer les paramètres de l'instrument, appuyer sur la touche **Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument) dans le coin supérieur droit. 

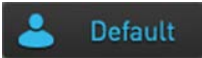
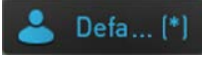
La touche paramètres instrument permet de mettre à jour le logiciel Countess™ II, changer la date et l'heure et installer ou remplacer jusqu'à deux cubes de lumière EVOS™ (page 51).

Charger le profil

Écran Profiles (Profils)

L'écran **Profiles** (Profils) permet de créer et d'enregistrer jusqu'à 9 profils personnalisés. Chaque profil personnalisé définit les paramètres de comptage (taille, luminosité, circularité et intensité de fluorescence) et les fonctions automatiques de l'instrument **Auto Lighting** (Éclairage auto) et **Auto FL Threshold** (Seuil FL auto) pour un flux de travail cohérent et rationalisé.



- Il est possible d'accéder à l'écran **Profiles** (profils) à partir des écrans **Home** (Accueil), **Capture** (Capture), **Results** (Résultats), **Advanced** (Avancé) ou **Adjust** (Ajuster).
- Le profil actuel s'affiche dans le coin supérieur gauche des écrans **Home** (Accueil), **Capture** (Capture), **Results** (Résultats), **Advanced** (Avancé) ou **Adjust** (Ajuster). 
- Les fonctions automatiques de l'instrument (ci-dessous) et les paramètres de comptage (page 13) sont définis dans l'écran **Edit profile** (Modifier profil) (voir « Ajouter/modifier un profil », page 15).
- Le profil **Default** (Défaut) contient des paramètres de comptage par défaut et ne peut pas être modifié.
- Les paramètres de comptage spécifiés dans le profil sélectionné sont appliqués à tous les nouveaux comptages de cellules.
- Si un comptage a déjà été effectué, charger un nouveau profil à partir de l'écran **Results** (Résultats) applique les préférences de comptage aux résultats de comptage actuel (nombre total de cellules, viabilité, etc.) et à tous les nouveaux comptages.
- Si un paramètre qui a été enregistré dans le cadre du protocole (taille, luminosité ou circularité) est modifié sur l'écran **Results** (Résultats), le nom du profil s'affiche suivi du symbole (*). 

Fonctions automatiques de l'instrument

Il est possible d'activer ou de désactiver les fonctions **Auto FL Threshold** (Seuil FL auto) et **Auto Lighting** (Éclairage auto) à l'aide des cases à cocher **Auto FL Threshold** (Seuil FL auto) et **Auto Lighting** (Éclairage auto) sur l'écran **Edit profile** (Modifier profil) (page 15).

- **Auto FL Threshold (Seuil FL auto)** : applique automatiquement le seuil dans les canaux de fluorescence pour soustraire la fluorescence de l'arrière-plan afin d'améliorer l'analyse malgré des niveaux de fond variables entre les échantillons. Cette fonction est disponible uniquement sur les instruments équipés des cubes de lumière EVOS™ en option.
- **Auto Lighting (Éclairage auto)** : éclaire automatiquement l'échantillon dans le champ lumineux pour une meilleure cohérence d'un échantillon à l'autre et une variabilité réduite d'un utilisateur à l'autre.

Paramètres de comptage

Les paramètres de comptage sont ajustés sur l'écran **Edit profile** (Modifier profil) à l'aide des **curseurs de paramètres**. Les curseurs de paramètres correspondent à un canal unique, qui est sélectionné à l'aide des touches radio de **sélection de canal** situées au-dessus des curseurs.



Curseurs de taille, luminosité et circularité Curseur d'intensité de la fluorescence

- **Taille** : lorsque le curseur est déplacé vers le haut, l'algorithme comprend des objets plus grands dans le comptage. Lorsque le curseur est déplacé vers le bas, seuls les petits objets sont comptés.

 = objets les plus grands  = objets les plus petits

- **Luminosité** : lorsque le curseur est déplacé vers le haut, l'algorithme comprend les objets les plus lumineux dans le comptage. Lorsque le curseur est déplacé vers le bas, seuls les objets les plus sombres sont comptés.

 = objets les plus lumineux  = objets les plus sombres

- **Circularité** : lorsque le curseur est déplacé vers le haut, l'algorithme comprend des objets ayant une forme autre que circulaire dans le comptage. Lorsque le curseur est déplacé vers le bas, seuls les objets parfaitement circulaires sont comptés.

 = objets les plus circulaires  = objets les moins circulaires

- **Intensité de la fluorescence** : lorsque le curseur est déplacé vers le haut, l'algorithme comprend les objets les plus fluorescents dans le comptage. Lorsque le curseur est déplacé vers le bas, seuls les objets les plus sombres sont comptés.

 = objets largement  = objets sombres ou moins

fluorescents

fluorescents

- Les curseurs de **taille, luminosité et intensité de fluorescence** définissent des plages.


Pour ajuster les limites supérieure et inférieure sans changer la plage de données, faire glisser le curseur par sa section centrale (c'est-à-dire la barre du curseur).

Pour ajuster uniquement la limite supérieure ou inférieure, déplacer la poignée supérieure ou inférieure dans la direction souhaitée. Cela aura également pour effet de modifier la plage de valeurs dans laquelle les cellules sont comptées.


- Le curseur de **circularité** définit uniquement une valeur seuil unique ; les cellules comprises à l'intérieur de la valeur définie sont comptées tandis que celles qui sont au-delà de cette plage sont exclues.

Pour ajuster le seuil de circularité, déplacer le curseur dans la direction souhaitée.

Charger un profil


1. Appuyer sur la touche **Profiles** (Profils) située dans le coin supérieur gauche de l'écran pour ouvrir l'écran **Profiles** (Profils). 
2. Appuyer sur le profil souhaité pour le sélectionner puis sur la touche **Load** (Chargement).

L'instrument chargera les paramètres de comptage spécifiés dans le profil sélectionné avant de revenir à l'écran précédent.

3. Pour revenir à l'écran précédent sans charger le nouveau profil, appuyer sur la touche **previous** (précédent). 

L'instrument gardera le profil enregistré mais retournera à l'écran précédent sans le charger.

Ajouter/modifier un profil

1. Appuyer sur la touche **Profiles** (Profils) située dans le coin supérieur gauche de l'écran pour ouvrir l'écran **Profiles** (Profils). 
2. Pour ajouter ou modifier un nouveau profil, sélectionner un profil vide ou existant, puis appuyer sur la touche **Edit** (Modifier). L'écran **Edit** (Modifier) du profil sélectionné s'ouvre.

Remarque : le profil **Default** (Défaut) contient des paramètres de comptage par défaut et ne peut pas être modifié.

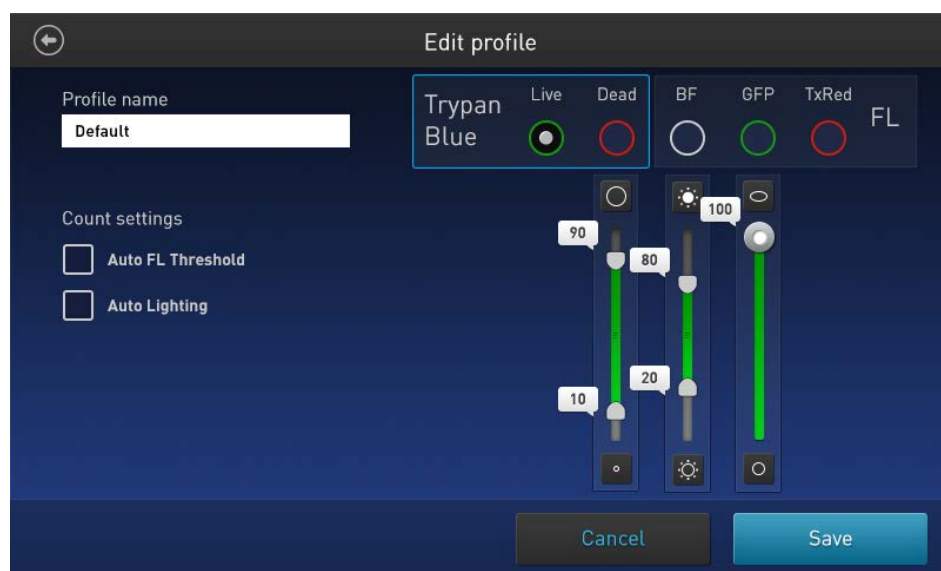
3. Cocher ou décocher la case **Auto FL Threshold** (Seuil FL Auto) pour activer (**ON** (MARCHE)) ou désactiver (**OFF** (ARRÊT)) la fonction **Auto FL Threshold** (Seuil FL auto) (page 13).

Remarque : cette fonction est disponible uniquement sur les instruments équipés des cubes de lumière EVOS™ en option.

4. Cocher ou décocher la case **Auto Lighting** (Éclairage auto) pour activer (**ON** (MARCHE)) ou désactiver (**OFF** (ARRÊT)) la fonction **Auto Lighting** (Éclairage auto) (page 13).

Définir les paramètres de comptage du canal à champ lumineux :

5. Pour définir de nouveaux paramètres de comptage du canal à champ lumineux :
 - a. À partir de la boîte de sélection **Trypan Blue** (Bleu de trypan), sélectionner la touche radio **Live** (Vivant) ou **Dead** (Mort).
 - b. Ajuster les seuils de taille, luminosité et circularité à l'aide du **curseur de paramètre** correspondant (page 13).



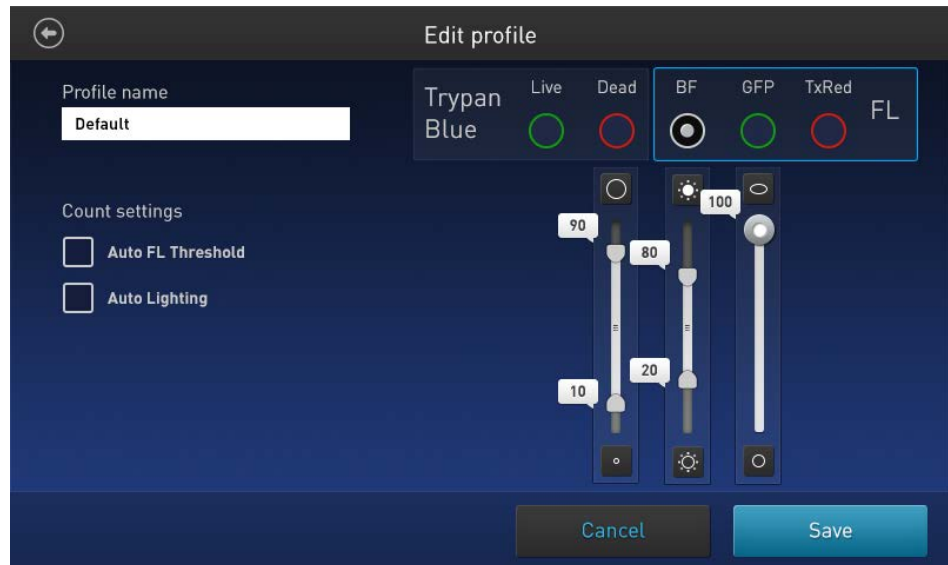
Définir les paramètres de comptage des canaux fluorescents

6. Pour définir les nouveaux paramètres de comptage des analyses de fluorescence (disponible uniquement sur les instruments équipés des cubes de lumière EVOS™) :
 - a. A partir de la boîte de sélection **FL** (FL), sélectionner le canal souhaité à l'aide de la touche radio correspondante.

Les options disponibles sont **BF** (BF) (champ lumineux) et jusqu'à deux canaux de fluorescence, selon les cubes de lumière installés (**GFP** et **TxRed** dans l'exemple suivant).
 - b. Définir les nouveaux paramètres de comptage du canal sélectionné à l'aide du **curseur de paramètre** correspondant (page 13).

Les curseurs de paramètres du canal **BF** (BF) permettent de borner les résultats de comptage selon la taille, la luminosité et la circularité.



Le curseur de paramètre du canal de fluorescence sélectionné permet de borner les résultats de comptage selon l'intensité de fluorescence relative dans ce canal.
 - c. Répéter l'opération pour les canaux restant le cas échéant.



Remarque : si nécessaire, il est possible d'ajuster plus précisément les paramètres de taille, de luminosité ou de circularité du profil sélectionné avant ou après avoir effectué un comptage de cellules. Ces changements supplémentaires peuvent être enregistrés dans les paramètres de comptage du profil actuel ou en tant que profil distinct directement à partir de l'écran **Advanced** (Avancé) (voir « Enregistrer en tant que nouveau protocole », page 29).

7. Pour attribuer un nom au nouveau profil ou pour changer le nom d'un profil existant, appuyer sur le champ de texte **Profile name** (Nom du profil). Le **clavier alphanumérique** s'ouvre.



8. Saisir le nom de profil souhaité à l'aide du clavier alphanumérique.
Pour saisir des symboles, appuyer sur la touche **symbole** (@%&). Pour revenir au clavier alphanumérique, appuyer sur la touche **ABC**.
9. Appuyer sur la touche **Enter** (Entrée) pour enregistrer le nom et revenir à l'écran **Edit profile** (Modifier profil).
Pour revenir à l'écran **Edit profile** (Modifier profil) sans enregistrer le nom, appuyer sur la touche **Close** (Fermer). 
10. Appuyer sur la touche **Save** (Enregistrer) pour enregistrer le profil puis sur la touche **Close** (Fermer) de l'écran de confirmation pour revenir à l'écran **Profiles** (Profils).
Pour revenir à l'écran **Profiles** (Profils) sans enregistrer, appuyer sur la touche **Cancel** (Annuler).
11. Sur l'écran **Profiles** (Profils), appuyer sur la touche **Load** (Chargement).
L'instrument chargera les paramètres de comptage spécifiés dans le profil sélectionné avant de revenir à l'écran précédent.
12. Pour revenir à l'écran précédent sans charger le nouveau profil, appuyer sur la touche **Précédent**. L'instrument gardera le profil enregistré mais retournera à l'écran précédent sans le charger. 

Afficher les noms de profil

- La longueur maximale d'affichage des noms de profils à l'écran est sept caractères.
- Si le nom du profil comprend plus de sept caractères, le nom est réduit aux sept premiers caractères avec la mention « ... » à la fin. Par exemple, « MonProfil » est réduit à « MonPr... ».
- Si un paramètre qui a été enregistré dans le cadre du protocole (taille, luminosité ou circularité) est modifié sur l'écran **Results** (Résultats), le nom du profil s'affiche suivi du symbole « (*) ». Par exemple, « Comptage » devient « Compt... (*) ».
- Lorsqu'un profil ayant un nom de plus de quatre ou cinq caractères est modifié, seuls les quatre ou cinq premiers caractères sont affichés et le nom est accompagné de « ... (*) ». Par exemple, « MonProfil » est réduit à « MonPr...(*) ».

 Profile

 MyPro...

 Count (*)

 MyPro... (*)

Préparer les échantillons

Recommandations Merci de suivre les recommandations suivantes pour obtenir les meilleurs résultats :

- Vérifier que l'échantillon de cellules est mélangé de manière homogène.
- La plage de mesure s'étend de 1×10^4 à 1×10^7 cellules/ml, mais la plage optimale est 1×10^5 à 4×10^6 cellules/ml.
- Pour obtenir des résultats précis lors des analyses de viabilité des cellules, s'assurer que la zone de comptage est couverte par la suspension cellulaire et compter les cellules immédiatement après la coloration, selon le protocole d'analyse.
- **Ne pas** presser les surfaces optiques des lames à chambres. Tenir les lames par les bords.
- Veiller à ne pas former de bulles dans l'échantillon.

Charger une lame à chambres Countess™

1. Préparer l'échantillon en ajoutant 10 µl de la suspension cellulaire à 10 µl de bleu de trypan à 0,4 %. Bien mélanger l'échantillon en l'agitant de haut en bas plusieurs fois.
2. Pipeter doucement 10 µl d'échantillon dans la zone de chargement en forme de demi-lune. L'échantillon est chargé dans la chambre par capillarité.



3. Laisser l'échantillon reposer dans la chambre pendant 30 secondes, puis insérer la lame dans le port à lames (page 9). Un léger clic se fait entendre lorsque la lame est correctement insérée.
4. Pour retirer la lame, l'enfoncer doucement dans l'instrument jusqu'à ce qu'elle s'enclenche et qu'un ressort la pousse vers l'extérieur. Saisir la lame et la sortir entièrement.



Remarque : après avoir utilisé les lames de comptage de cellules à chambres Countess™, les éliminer de manière adaptée en tant que déchets biologiques potentiellement dangereux. **Ne pas** réutiliser les lames à chambres jetables.

Charger une lame réutilisable Countess™ II FL

1. Avant de charger l'échantillon sur une lame réutilisable Countess™ II FL, placer un couvercle sur la chambre de comptage et s'assurer que le couvercle est propre et exempt de graisse.
2. Pipeter doucement 10 µl d'échantillon dans l'orifice d'entrée de l'échantillon qui sera aspiré par effet de capillarité dans la chambre de comptage. Une chambre de comptage correctement chargée doit présenter une fine pellicule uniforme de liquide sous le couvercle.



3. Après avoir utilisé la lame réutilisable Countess™ II FL, rincer la lame en verre et le couvercle avec de l'eau puis les laver avec de l'éthanol à 70 %. Utiliser si nécessaire des mouchoirs de laboratoire Kimwipes™ pour nettoyer et sécher les lames.



Remarque : toutes les chambres des lames de comptage de cellules à chambres Countess™ ainsi que les lames réutilisables Countess™ II FL ont une capacité d'échantillonnage de 10 µl. Ne pas trop remplir les chambres des lames.

Fonctionnement des lames

L'instrument Countess™ II FL est compatible avec les lames de comptage de cellules à chambres Countess™ jetables et avec les lames réutilisables en verre Countess™ II FL grâce à des supports spécifiques aux lames.

Lame de comptage de cellules à chambres Countess™

1. Pour utiliser les lames de comptage de cellules à chambres Countess™ en plastique avec le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL, insérer le support de lame (de couleur noire, voir image ci-dessous) dans le port de lame de l'instrument jusqu'à ce qu'il s'enclenche à sa place.

Remarque : le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL est expédié avec le support jetable déjà installé.



2. Charger l'échantillon sur la lame à chambres tel qu'indiqué à la page 18, puis insérer la lame dans le support à lame dans le port à lame jusqu'à ce qu'il s'enclenche.



3. Pour retirer la lame, l'enfoncer doucement dans l'instrument jusqu'à ce qu'elle s'enclenche et qu'un ressort la pousse vers l'extérieur. Saisir la lame et la sortir entièrement.
4. *Facultatif :* pour retirer le support à lame, presser doucement les languettes et retirer complètement le support de l'instrument.

Remarque : il est possible de ranger le support à lame derrière le panneau d'accès, à l'arrière de l'instrument (page 9).

Lame réutilisable Countess™ II FL

1. Pour utiliser une lame réutilisable Countess™ II FL, ouvrir le panneau arrière du compteur automatisé de cellules Countess™ II FL à l'aide des deux fixations 1/4 de tour qui le maintiennent à l'arrière de l'instrument.



2. Retirer le support de lame réutilisable (blanc) de l'intérieur du panneau arrière.



3. Charger l'échantillon sur la lame réutilisable en verre tel qu'indiqué à la page 19, puis placer la lame chargée dans le support à lame blanc.



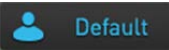
4. Insérer le support et la lame réutilisable assemblés dans le port à lame et les pousser doucement dans l'instrument jusqu'à ce qu'ils s'enclenchent.
5. Pour retirer la lame, l'enfoncer doucement dans l'instrument jusqu'à ce qu'elle s'enclenche et qu'un ressort la pousse vers l'extérieur. Saisir la lame et la sortir entièrement.
6. *Facultatif* : pour procéder au comptage du second échantillon présent sur la lame réutilisable, retirer simplement la lame du support, la faire pivoter et la réinsérer dans le support de manière que le second échantillon soit aligné avec l'orifice de visualisation de l'échantillon.

Remarque : il est possible de ranger le support à lame derrière le panneau d'accès, à l'arrière de l'instrument (page 9).

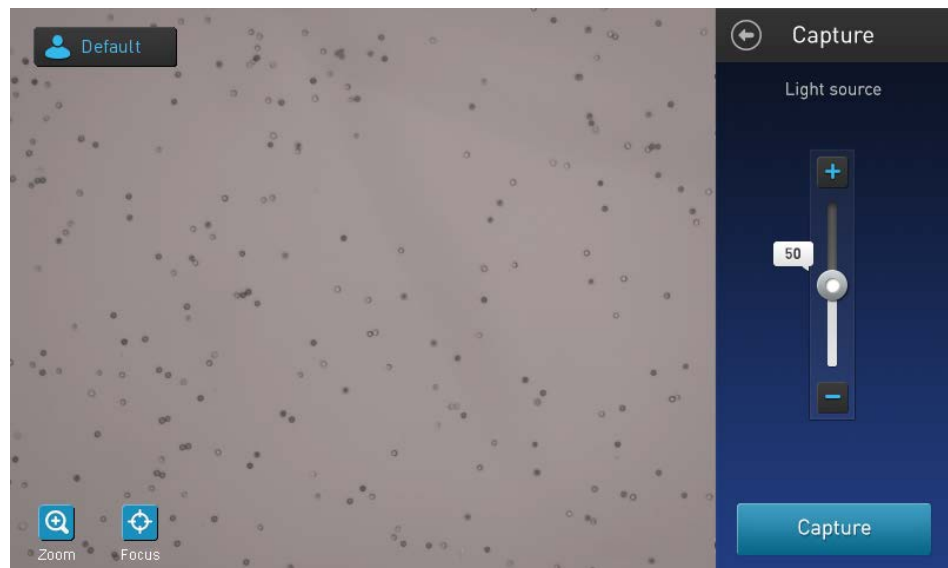
3. Comptage et analyses de viabilité des cellules




Comptage de cellules en champ lumineux

Capture et comptage

1. Préparer l'échantillon en ajoutant 10 µl de la suspension cellulaire à 10 µl de bleu de trypan à 0,4 %. Bien mélanger l'échantillon en l'agitant de haut en bas plusieurs fois.
2. Charger 10 µl d'échantillon par chambre de la lame tel qu'indiqué à la page 18. Laisser l'échantillon reposer pendant 30 secondes.
3. *Facultatif* : appuyer sur la touche **Profils** (Profils) et charger le profil souhaité tel qu'indiqué à la page 15. 
4. Insérer la lame d'échantillon dans le port à lame (page 9) ; s'assurer que la lame d'échantillon est insérée complètement dans l'instrument. Un léger clic se fait entendre lorsque la lame est correctement insérée.
5. Une fois la lame insérée, l'instrument éclaire automatiquement l'échantillon, définit l'intensité de l'éclairage du champ lumineux et effectue une mise au point automatique sur les cellules.

Remarque : pour désactiver la fonction **Auto Lighting** (Éclairage auto), voir page 16.



6. *Facultatif* : pour ajuster manuellement la mise au point, appuyer sur la touche **Focus** (Mise au point) puis utiliser le **curseur Focus** (Mise au point) pour mettre au point l'échantillon tel qu'indiqué à la page 59. 
7. Appuyer sur la touche de **Set** (Réglage) pour régler la mise au point et réduire les commandes de mise au point. Une fois la mise au point réglée, la touche de réglage du curseur de mise au point devient inactive, confirmant que le réglage de la mise au point a été mémorisé. 


Remarque : si nécessaire, **zoomer** sur l'image pour ajuster la mise au point ou l'éclairage.

8. *Facultatif* : régler l'exposition à l'aide du **curseur de source lumineuse**.

Le curseur de source lumineuse contrôle l'intensité des LED, le gain de la caméra ainsi que le temps d'exposition et permet d'ajuster la luminosité de l'image.

Remarque : si l'instrument est équipé du cube lumineux EVOS™, appuyer d'abord sur la touche **Adjust** (Ajuster), puis sélectionner **champ lumineux** (cercle blanc) comme source lumineuse. Régler l'exposition puis appuyer sur la touche **Done** (Terminé) pour revenir à l'écran **Capture** (Capture).

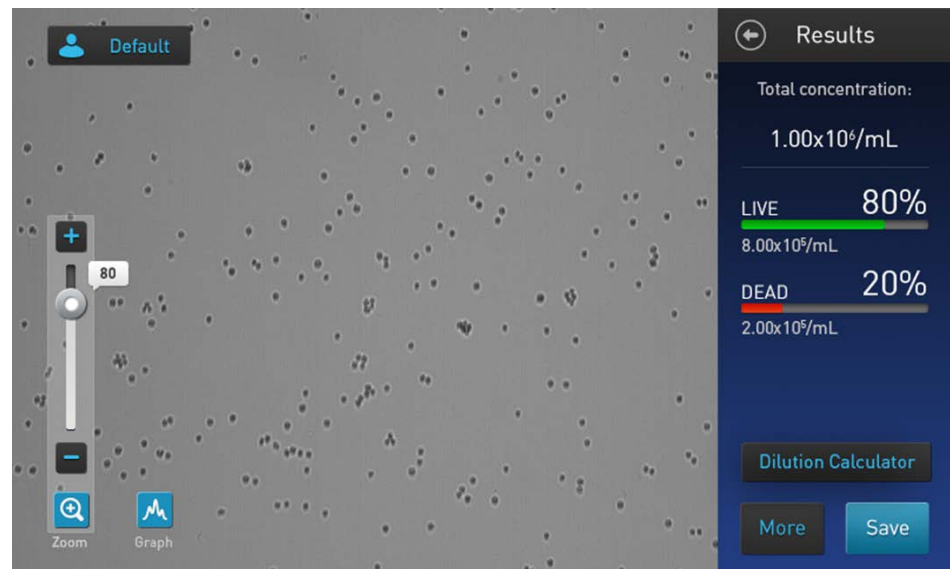


9. Appuyer sur la touche **Capture** (Capture).

Remarque : si l'instrument est équipé du cube lumineux EVOS™, vérifier que seule la case à cocher **BF** (champ lumineux) est sélectionnée sous canaux à collecter avant de capturer l'image.



L'instrument capture temporairement l'image et affiche les résultats (concentration totale, pourcentages et concentrations de cellules vivantes et mortes). Pour plus d'informations, consulter « Voir les résultats », page 25.



Étapes suivantes

- Pour identifier les objets (c.- à- d. les cellules) comptés en tant qu'éléments « vivants » ou « morts », appuyer sur la touche **More** (Plus) pour accéder à l'écran **Advanced** (Avancé) (page 26).
- Pour voir la distribution de cellules vivantes et mortes sous forme de graphique, appuyer sur la touche **Graph** (Graphique) (page 27).
- Pour borner les résultats selon la taille, la luminosité ou la circularité des objets, appuyer d'abord sur la touche **More** (Plus) pour ouvrir l'écran **Advanced** (Avancé) puis appuyer sur la touche **Adjust** (Ajuster) pour aller sur l'écran **Adjust** (Ajuster) (page 28).

Remarque : les modifications effectuées concernant les paramètres de taille, luminosité et circularité peuvent être enregistrées dans l'écran **Adjust** (Ajuster) dans le profil actuel ou en tant que profil distinct directement à partir de l'écran **Advanced** (Avancé) (voir « Enregistrer en tant que nouveau protocole », page 29).

- Pour calculer le volume de l'échantillon de cellules et le tampon nécessaires pour atteindre la concentration souhaitée en fonction des résultats de comptage, appuyer sur **Dilution Calculator** (Calculateur de dilution) pour ouvrir cette application (page 43)
- Pour sauvegarder les résultats de manière permanente, appuyez sur la touche **Save** (Enregistrer) (page 46).
- Pour effectuer un nouveau comptage, retirer la lame et insérer la seconde chambre dans l'instrument ou une nouvelle lame d'échantillons.

Affichage des résultats

Écran Results (Résultats) du champ lumineux

L'écran **Results** (Résultats) du comptage de cellules et des analyses de viabilité cellulaire effectués à l'aide du canal à champ lumineux affiche une image composite d'objets comptés et des résultats du comptage de cellules et des calculs de viabilité cellulaire (concentration totale, pourcentages et concentrations en cellules vivantes et mortes).



Remarque : lors du comptage de cellules et des analyses de viabilité cellulaire en champ lumineux, l'algorithme de comptage tient compte d'une dilution des cellules à 1:1 dans le bleu de trypan et prend en compte cette dilution lors du calcul de la concentration cellulaire totale. La concentration cellulaire affichée sur l'écran **Results** (Résultats) correspond à la concentration cellulaire initiale avant dilution dans le bleu de trypan.

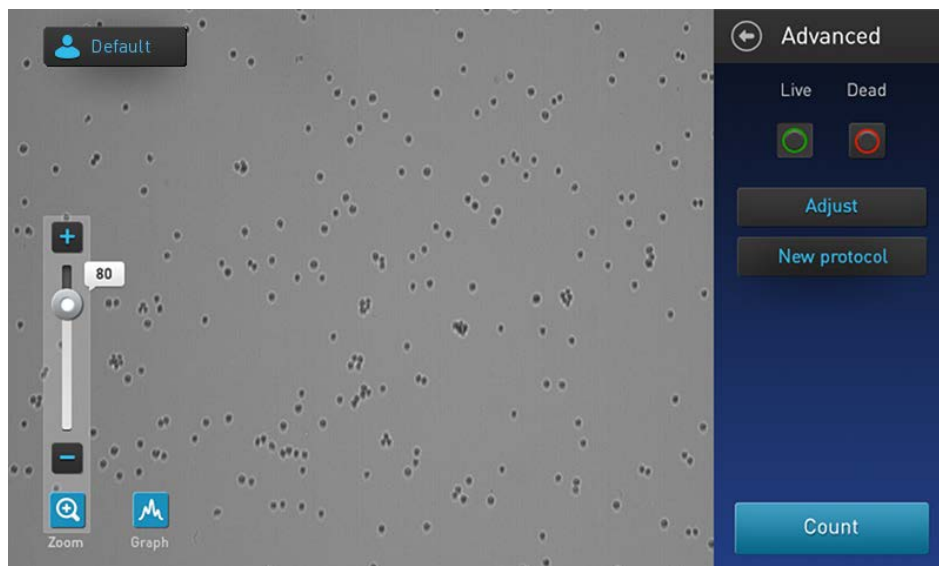
Objets identifiés comptés

Écran Advanced (Avancé)

L'écran **Advanced** (Avancé) permet d'identifier les objets (c.-à-d. les cellules) comptés dans chaque canal et incluses aux résultats de comptage pour une analyse ultérieure. Après avoir analysé les objets marqués il est possible d'ajuster le seuil de taille, de luminosité et/ou de circularité souhaité pour l'application (page 28).

Identifier les cellules vivantes et mortes

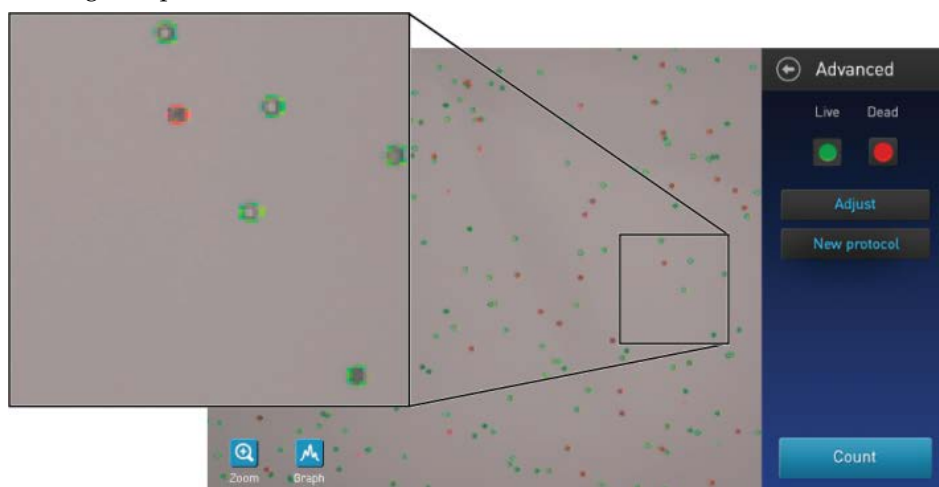
1. Sur l'écran **Results** (Résultats), appuyer sur la touche **More** (Plus). L'écran **Advanced** (Avancé) s'ouvre.



2. Pour identifier les cellules incluses dans le comptage en tant que « vivantes », appuyer sur la touche **Live** (Vivant). Les cellules « vivantes » seront cerclées de vert à l'écran.

Pour identifier les cellules incluses dans le comptage en tant que « mortes », appuyer sur la touche **Dead** (Mort). Les cellules « mortes » seront cerclées de rouge à l'écran.

Remarque : il est possible de sélectionner une seule ou les deux options. Dans l'exemple suivant, les touches **Live** (Vivant) et **Dead** (Mort) sont sélectionnées toutes les deux et les cellules « vivantes » et « mortes » sont cerclées de vert et de rouge, respectivement.



3. Pour ne plus marquer les cellules identifiées comme « vivantes » (vert) ou « mortes » (rouge) à l'écran, appuyer à nouveau sur la touche **Live** (Vivant) ou **Dead** (Mort), respectivement.

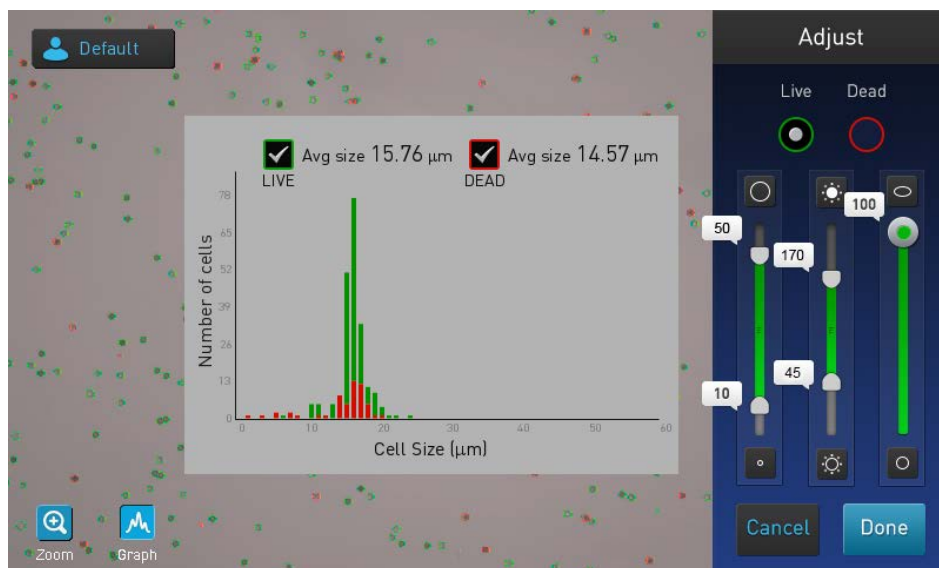
Graphique des résultats de comptage

Afficher le graphique

Concernant le comptage de cellules et les analyses de viabilité cellulaire effectués dans le canal à champ lumineux, il est possible de voir sous forme de graphique la distribution des cellules (vivantes et/ou mortes) selon la taille.

Remarque : il est possible de voir le graphique sur les écrans **Results** (Résultats), **Advanced** (Avancé) et **Adjust** (Ajuster).

1. Pour voir le graphique montrant la distribution des cellules vivantes et/ou mortes selon la taille des cellules, appuyer sur la touche **Graph** (Graphique).



2. Pour voir la distribution des cellules vivantes ou mortes uniquement, caser la cache à cocher **Live** (Vivant) ou **Dead** (Mort) correspondante sur le graphique. Le graphique mettra automatiquement à jour et affichera la distribution des cellules selon la taille, uniquement dans la population sélectionnée.
3. *Facultatif* : ajuster les paramètres de comptage à l'aide des curseurs de **taille**, **luminosité** et **circularité**. Lorsque les paramètres de comptage sont ajustés, les résultats de comptage et le graphique sont automatiquement mis à jour.
4. Pour fermer le graphique, appuyer à nouveau sur la touche **Graph** (Graphique).

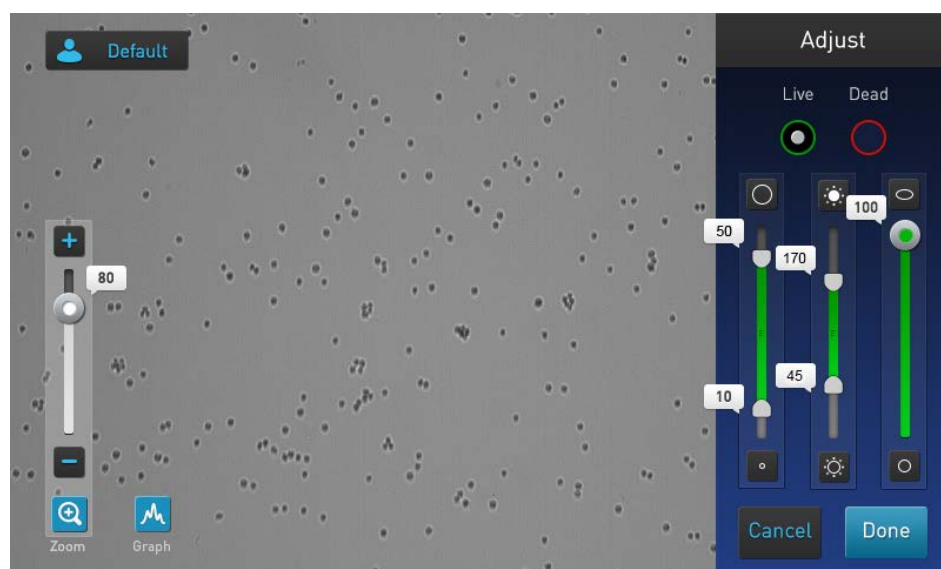
Borner les résultats de comptage

Écran Adjust (Ajuster)

L'écran **Adjust** (Ajuster) du comptage de cellules et des analyses de viabilité cellulaire dans le canal à champ lumineux contient les commandes permettant de délimiter les résultats selon la taille, la luminosité et la circularité. Il est possible d'ajuster les paramètres de comptage avant ou après avoir effectué un comptage et d'enregistrer ces changements dans le profil actuel ou dans un profil distinct (page 29).

Borner les résultats de comptage

1. Sur l'écran **Results** (Résultats), appuyer sur la touche **More** (Plus) pour ouvrir l'écran **Advanced** (Avancé).
2. *Facultatif* : appuyer sur la touche **Live** (Vivant) et/ou **Dead** (Mort) pour identifier les cellules de la population sélectionnée (page 26).
3. Sur l'écran **Advanced** (Avancé), appuyer sur la touche **Adjust** (Ajuster) pour ouvrir l'écran **Advanced** (Avancé).



4. *Facultatif* : appuyer sur la touche **Graph** (Graphique) pour voir la distribution des cellules (vivantes et/ou mortes) selon la taille lors du bornage des résultats de comptage (page 29).
5. Sélectionner le canal (**Live** (Vivant) ou **Dead** (Mort)) à borner.
6. Ajuster les paramètres de comptage à l'aide des curseurs de **taille**, **luminosité** et **circularité**.

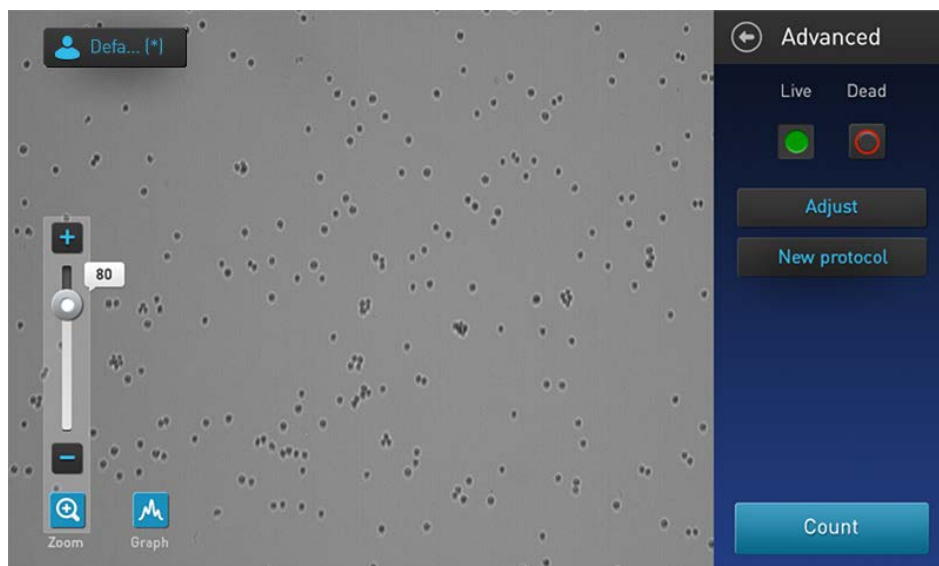
Remarque : pour obtenir une description des paramètres de comptage et des commandes des paramètres de comptage (c.-à-d. des curseurs de paramètres), voir page 13.

7. Une fois cette tâche exécutée, appuyer sur la touche **Done** (Terminé) pour enregistrer les changements des paramètres de comptage et revenir à l'écran **Advanced** (Avancé).
Appuyer sur la touche **Cancel** (Annuler) pour revenir à l'écran **Results** (Résultats) sans enregistrer les changements.
8. Sur l'écran **Advanced** (Avancé) appuyer sur la touche **Count** (Comptage) pour recalculer les résultats avec les nouveaux paramètres de comptage.
9. Pour enregistrer les changements des paramètres de taille, luminosité ou circularité dans le profil actuel ou pour créer un profil avec les nouveaux paramètres de comptage, voir page 29.
10. Pour enregistrer les résultats de manière permanente, voir page 46.

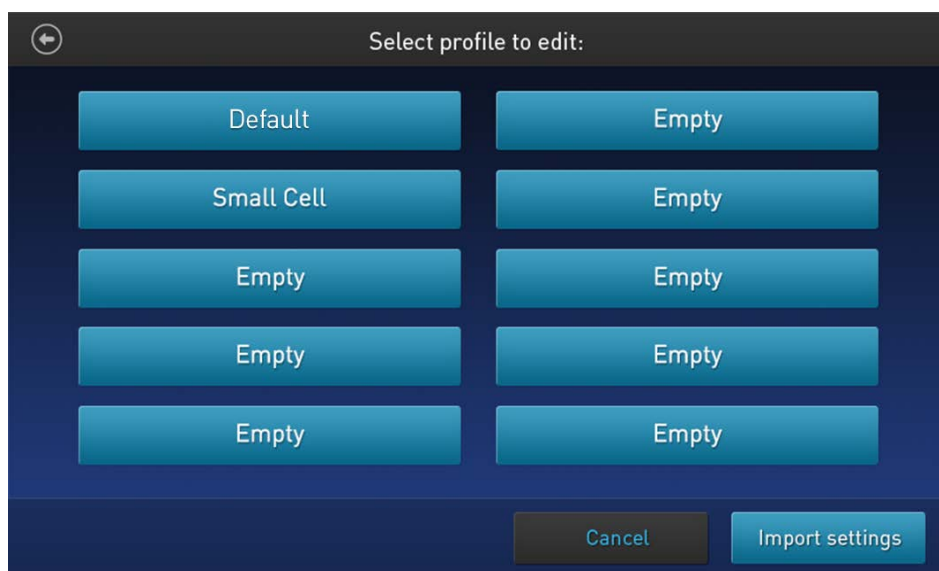
Enregistrer en tant que nouveau protocole

Modifier et enregistrer le profil en tant que nouveau protocole

1. Si des changements ont été apportés aux paramètres de comptage avant ou après un comptage, le nom de profil affiché s'accompagne du symbole (*) et l'écran de résultats **Advanced** (Avancé) affiche la touche **New protocol** (Nouveau protocole), ce qui permet d'enregistrer les changements dans le profil actuel ou en tant que protocole distinct.



2. Pour enregistrer les changements des paramètres de comptage dans le profil actuel ou pour créer un nouveau profila avec les paramètres modifiés, appuyer sur la touche **New protocol** (Nouveau protocole). L'écran **Select profile to edit** (Sélection du profil à modifier) s'ouvre.



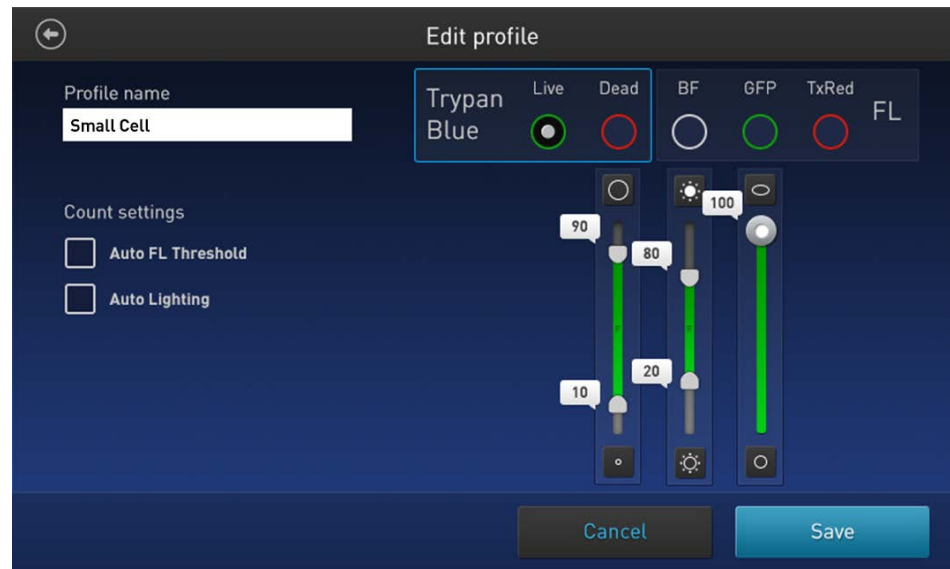
Remarque : la touche du profil actuel est sélectionnée par défaut sur l'écran **Select profile to edit** (Sélection du profil à modifier). En cas d'utilisation du profil **Default** (Défaut) pour le comptage, aucune touche de profil n'est sélectionnée sur cet écran.

3. Sélectionner le profil à modifier puis appuyer sur la touche **Import settings** (Importer paramètres).

Remarque : il est possible de sélectionner un profil précédemment enregistré ou un profil vide. Le profil **Default** (Défaut) ne peut pas être modifié.

4. L'écran **Edit profile** (Modifier profil) s'ouvre et affiche les paramètres de comptage modifiés à partir de l'écran **Adjust** (Ajuster) (page 28).

Remarque : si un profil précédemment enregistré est sélectionné, le nom de ce profil remplit le champ de texte **Profile name** (Nom du profil) par défaut. Sinon, le champ reste vide.



5. Pour changer le nom du profil sélectionné, appuyer sur le champ de texte **Profile name** (Nom du profil) et saisir le nom souhaité à l'aide du **clavier alphanumérique** tel qu'indiqué à la page 17.
6. *Facultatif* : le cas échéant, il est possible d'apporter des changements supplémentaires aux paramètres de comptage, tel qu'indiqué à la page 15.
7. Cliquer sur la touche **Save** (Enregistrer) pour enregistrer les paramètres du nouveau profil et revenir à la page **Results** (Résultats) pour le dernier comptage. Le nom du profil s'affiche alors sans le symbole « (*) ».

Cliquer sur la touche **Cancel** (Annuler) pour revenir à la page **Results** (Résultats) sans enregistrer les changements dans le profil. Le nom de profil s'affiche alors accompagné du symbole (*), indiquant que les paramètres de comptage du profil sélectionné ont été altérés mais non encore enregistrés.

4. Analyses de fluorescence

Comptage de cellules par fluorescence

Présentation

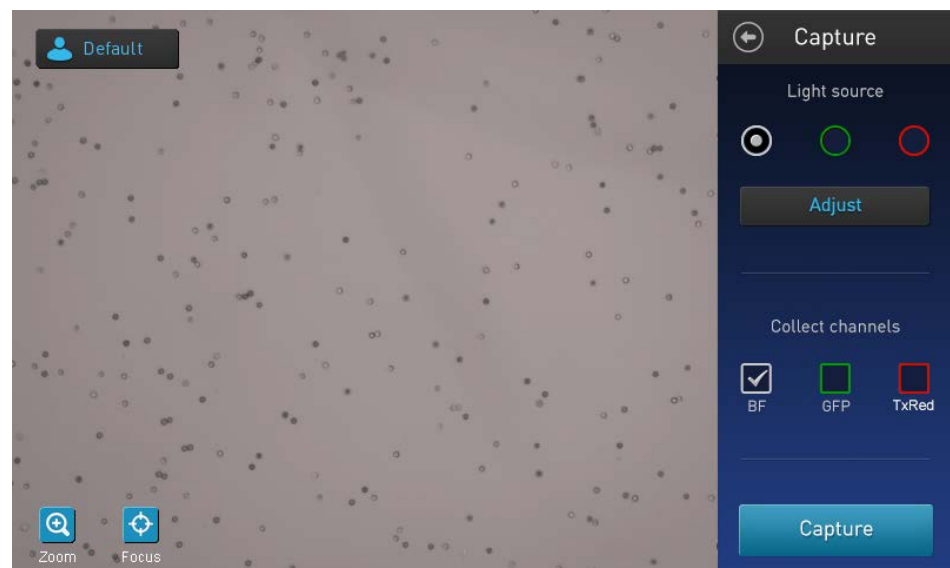
Le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL équipé des cubes de lumière EVOS™ en option peut être utilisé pour une multitude d'applications de fluorescence, y compris pour les comptages simultanés de cellules colorées avec deux colorants fluorescents différents, l'expression GFP et RFP, l'apoptose et les analyses de viabilité cellulaire.



Pour obtenir des informations sur l'installation des cubes de lumière EVOS™ sur le compteur de cellules Countess™ II FL, voir page 55.

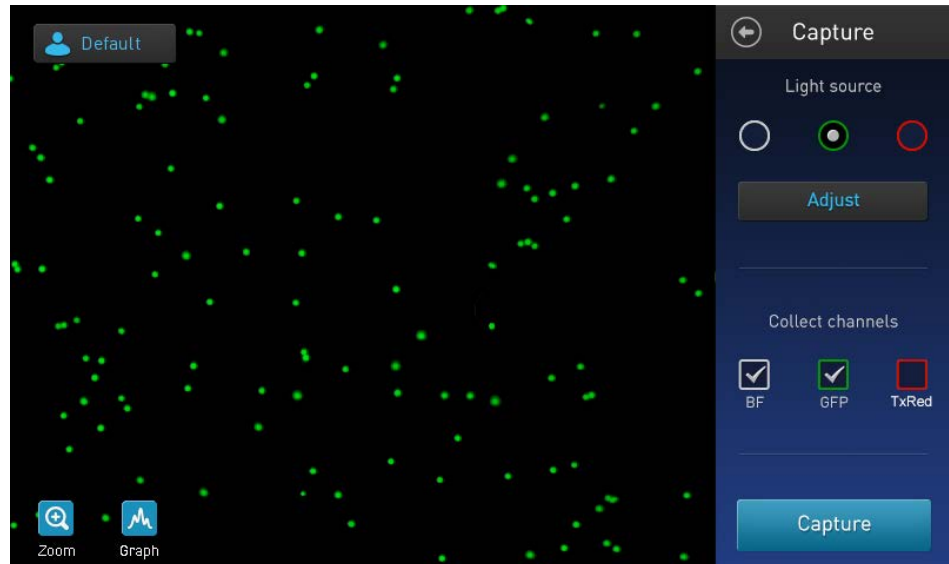
Procédure de comptage

1. Vérifier que l'échantillon de cellules est mélangé de manière homogène.
2. Charger 10 µl d'échantillon par chambre de la lame tel qu'indiqué à la page 18. Laisser l'échantillon reposer pendant 30 secondes.
3. *Facultatif* : appuyer sur la touche **Profile** (Profils) située dans le coin supérieur gauche de l'écran pour ouvrir l'écran Profils (Profils) et charger le profil souhaité tel qu'indiqué à la page 12.
4. Insérer la lame d'échantillon dans le port à lame (page 9) ; s'assurer que la lame d'échantillon est insérée complètement dans l'instrument. Un léger clic se fait entendre lorsque la lame est correctement insérée.
5. Une fois la lame insérée, l'instrument éclaire automatiquement l'échantillon, définit l'intensité de l'éclairage du champ lumineux et effectue une mise au point automatique sur les cellules.

Remarque : pour désactiver la fonction **Auto Lighting** (Éclairage auto), voir page 16.

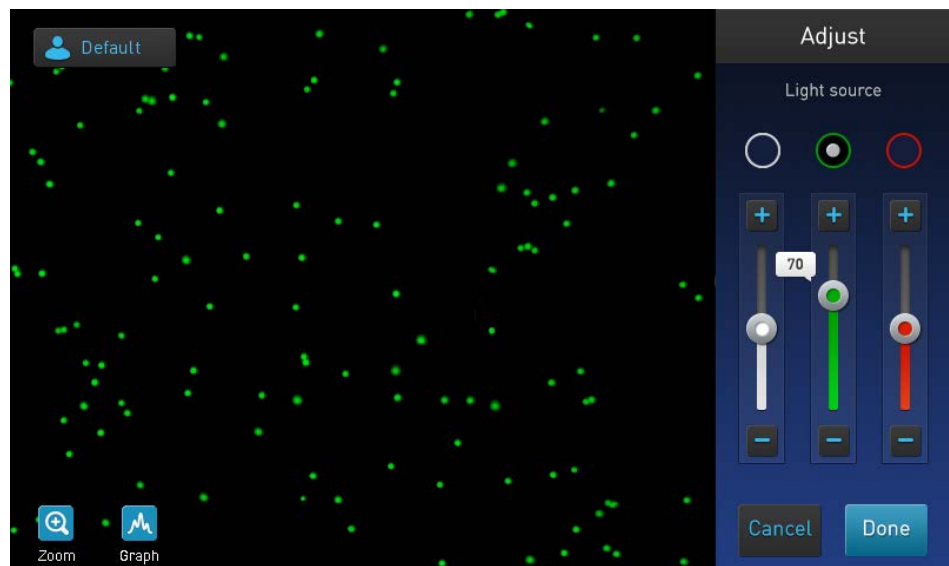


6. *Facultatif* : pour ajuster manuellement la mise au point, appuyer sur la touche **Focus** (Mise au point) puis utiliser le **curseur Focus** (Mise au point) pour mettre au point l'échantillon tel qu'indiqué à la page 59. 
7. Appuyer sur la touche de **Set** (Réglage) pour régler la mise au point et réduire les commandes de mise au point. Une fois la mise au point réglée, la touche de réglage du curseur de mise au point devient inactive, confirmant que le réglage de la mise au point a été mémorisé. 
8. Pour voir l'échantillon sous une source lumineuse différente, appuyer sur la touche **Light source** (Source lumineuse) souhaitée. L'instrument affiche l'échantillon dans le canal sélectionné (champ lumineux ou fluorescent). Dans l'exemple ci-dessous, l'échantillon est affiché dans le canal GFP.



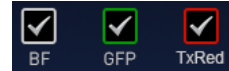
Remarque : les touches de sources lumineuses sélectionnent le canal lumineux (champ lumineux et/ou fluorescence) pour l'éclairage de l'échantillon et sont utilisées lors du réglage de l'exposition du canal sélectionné (étapes 9 à 11) ; elles ne déterminent pas le canal à utiliser pour la capture d'image.

9. Pour régler l'exposition, appuyer sur la touche **Adjust** (Ajuster) pour aller à l'écran Adjust (Ajuster).



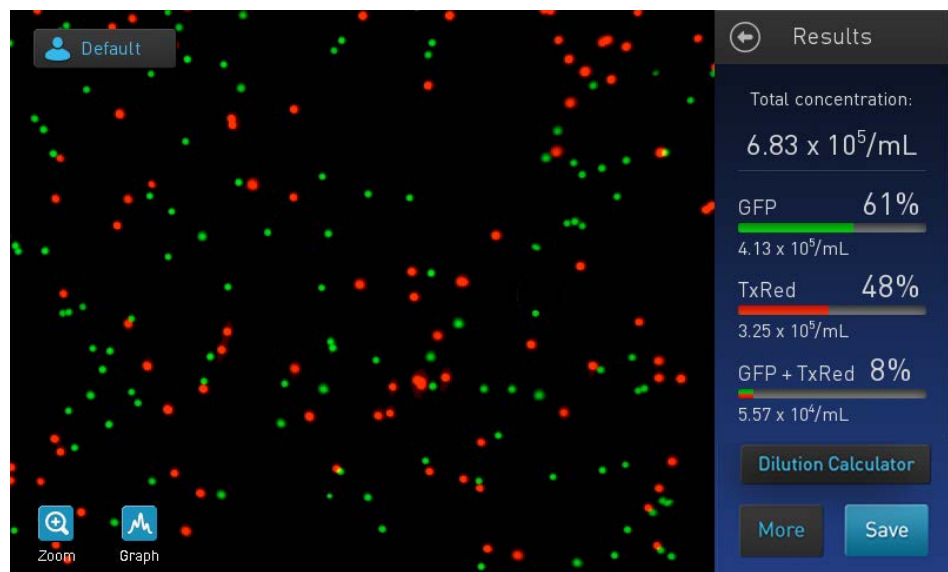
10. Appuyer sur la touche de **source lumineuse** du canal dont l'exposition doit être ajustée et ajuster l'exposition à l'aide du **curseur de source lumineuse**. Le cas échéant, répéter l'opération pour les canaux restants.
11. Après avoir réglé l'exposition, appuyer sur la touche **Done** (Terminé) pour revenir à l'écran **Capture** (Capture).
Pour revenir à l'écran **Capture** (Capture) sans changer l'exposition, appuyer sur la touche **Cancel** (Annuler).

12. Sur l'écran Capture, sélectionner les cases à cocher **Collect channels** (canaux à collecter) des canaux à capturer.



13. Appuyer sur la touche **Capture** (Capture).

L'instrument capture temporairement l'image et affiche les résultats (concentration totale, pourcentages et concentrations de cellules comptées dans chaque canal de fluorescence). Pour plus d'informations, consulter « Voir les résultats », page 35.



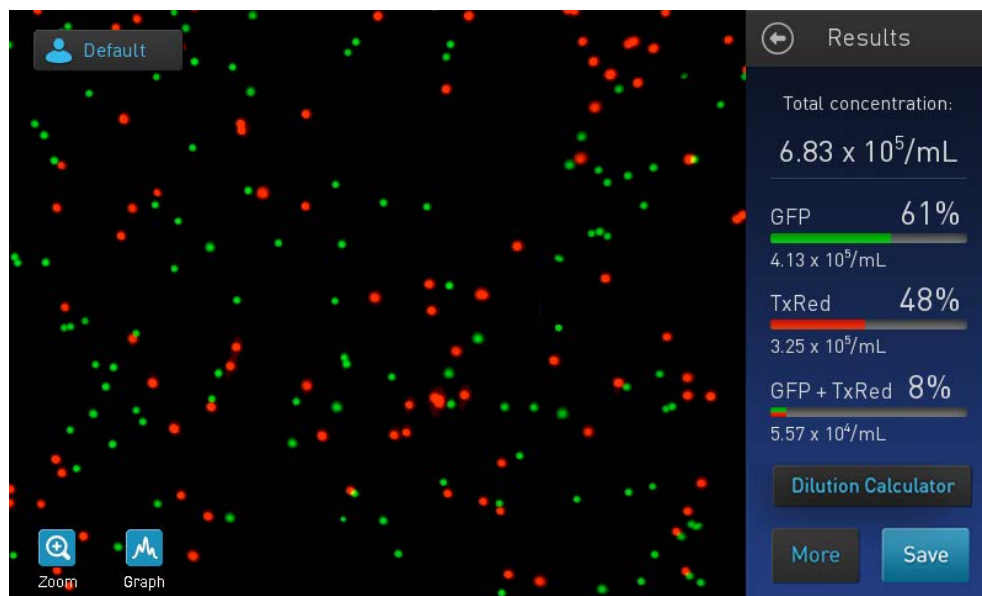
Étapes suivantes

- Pour identifier les objets (c.- à- d. les cellules) comptés dans chaque canal, appuyer sur la touche **More** (Plus) pour accéder à l'écran **Advanced** (Avancé) (page 36).
- Pour voir la distribution de cellules comptées dans chaque canal sous forme de graphique, appuyer sur la touche **Graph** (Graphique) (page 37).
- Pour borner les résultats selon la taille, la luminosité, la circularité ou l'intensité de fluorescence relative des objets, appuyer d'abord sur la touche **More** (Plus) pour ouvrir l'écran **Advanced** (Avancé) puis appuyer sur la touche **Adjust** (Ajuster) pour aller sur l'écran **Adjust** (Ajuster) (page 39).
Remarque : les modifications effectuées concernant les paramètres de taille, luminosité, circularité et intensité de fluorescence relative peuvent être enregistrées à partir de l'écran **Adjust** (Ajuster) dans le profil actuel ou en tant que profil distinct directement à partir de l'écran **Advanced** (Avancé) (voir « **Enregistrer en tant que nouveau protocole** » page 41).
- Pour calculer le volume de l'échantillon de cellules et le tampon nécessaires pour atteindre la concentration souhaitée en fonction des résultats de comptage, appuyer sur **Dilution Calculator** (Calculateur de dilution) pour ouvrir cette application (page 43).
- Pour sauvegarder les résultats de manière permanente, appuyez sur la touche **Save** (Enregistrer) (page 46).
- Pour effectuer un nouveau comptage, retirer la lame et insérer la seconde chambre dans l'instrument ou une nouvelle lame d'échantillons.

Affichage des résultats

Écran Results (Résultats) des analyses de fluorescence cellulaire

L'écran **Results** (Résultats) des analyses de fluorescence cellulaire affiche une image composite d'objets comptés et des résultats du comptage de cellules et des calculs de viabilité cellulaire (concentration totale, pourcentages et concentrations de cellules comptées dans chaque canal de fluorescence).



Remarque : la concentration cellulaire totale affichée après un comptage par fluorescence ne tient aucun compte de la dilution. Par conséquent, les résultats reflètent la concentration cellulaire actuelle sur la lame d'échantillon, et celle-ci doit être multipliée par le facteur de dilution présent pour calculer la concentration cellulaire initiale.

Cette méthode se différencie donc des comptages de cellules en champ lumineux pour lesquels l'algorithme de comptage tient compte d'une dilution des cellules à 1:1 dans le bleu de trypan et affiche la concentration cellulaire initiale (c.-à-d. avant dilution) sur l'écran **Results** (Résultats).

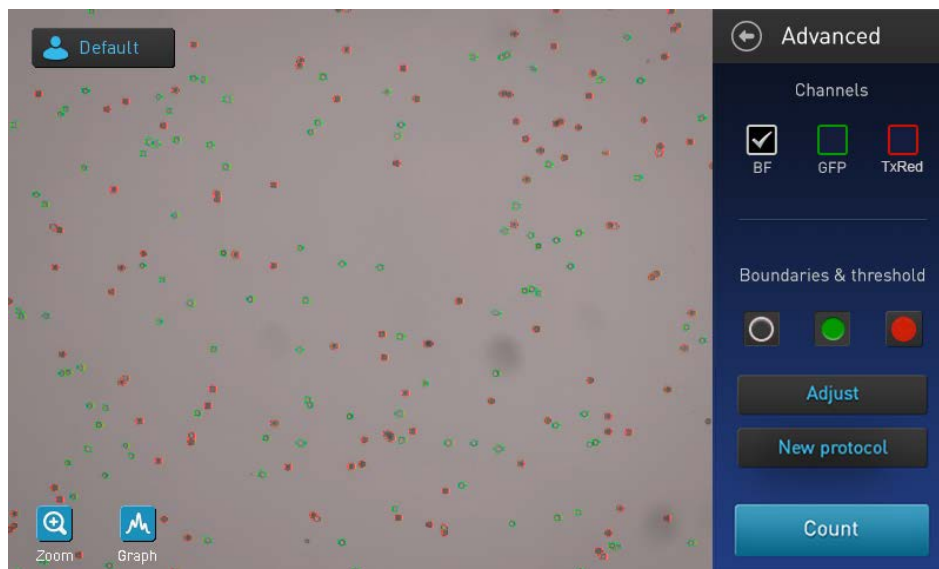
Objets identifiés comptés

Écran Advanced (Avancé)

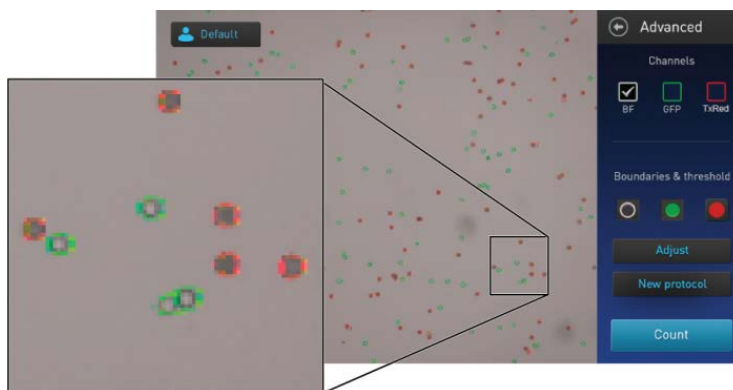
L'écran **Advanced** (Avancé) permet d'identifier les objets (c.-à-d. les cellules) comptés dans chaque canal et incluses aux résultats de comptage pour une analyse ultérieure. Après avoir analysé les objets marqués il est possible d'ajuster le seuil de taille, de luminosité et/ou de circularité souhaité pour l'application.

Identifier les cellules comptées dans les analyses de fluorescence

1. Sur l'écran **Results** (Résultats), appuyer sur la touche **More** (Plus) pour ouvrir l'écran **Advanced** (Avancé).



2. *Facultatif* : pour voir l'échantillon sous une source lumineuse spécifique (champ lumineux et/ou fluorescent), sélectionner la case à cocher des **canaux** souhaitée (champ lumineux dans l'exemple ci-dessus). Il est possible d'afficher l'échantillon dans un canal ou dans tous les canaux disponibles.
3. Pour identifier les cellules comptées dans un canal spécifique, appuyer sur la touche de **limite** correspondante. Les cellules comptées dans le canal sélectionné seront cerclées à l'écran dans la couleur du canal sélectionné. Dans l'exemple ci-dessus, les touches de **limite GFP** et **TxRed** ont été sélectionnées et les cellules comptées dans les canaux GFP et TxRed sont cerclées de vert et de rouge, respectivement.



4. Pour ne plus marquer les cellules comptées dans un canal spécifique, appuyer à nouveau sur la touche de **limite** correspondante.

Graphique des résultats de comptage

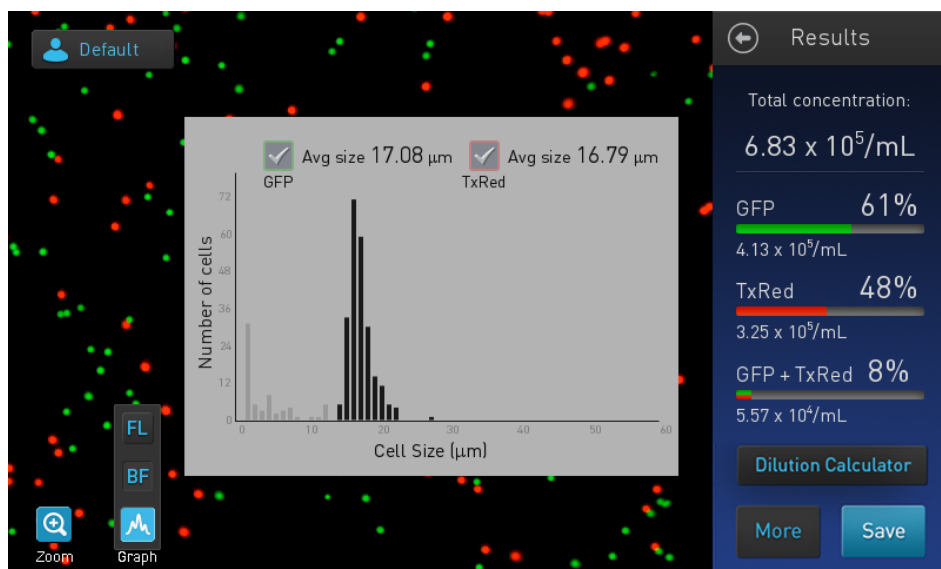
Voir le graphique des analyses de fluorescence cellulaire

Concernant les analyses de fluorescence, il est possible de voir sous forme de graphique la distribution des cellules selon la taille ou l'intensité de fluorescence relative.

Remarque : il est possible de voir le graphique sur les écrans **Results** (Résultats), **Advanced** (Avancé) et **Adjust** (Ajuster).

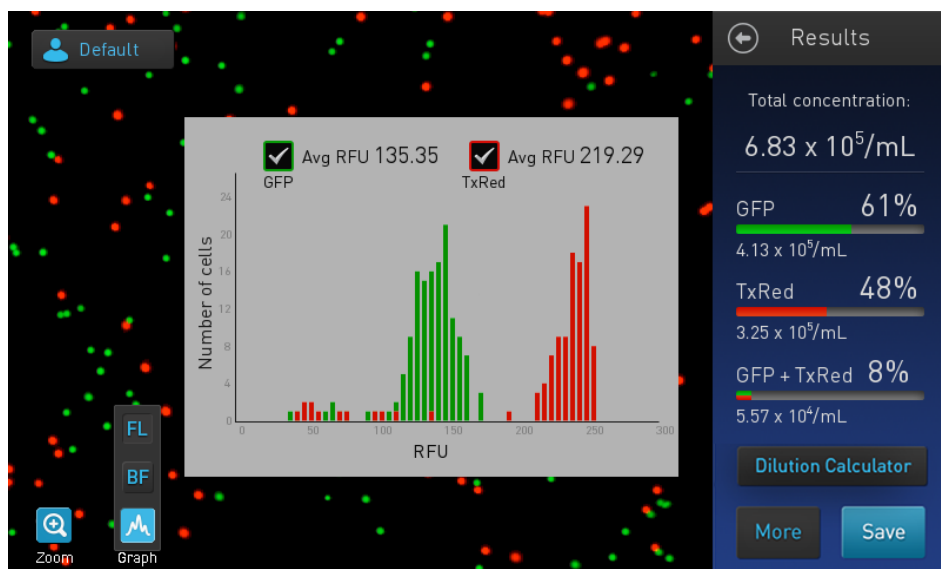
1. Pour voir le graphique montrant la distribution des cellules selon la taille, appuyer sur le touche **Graph** (Graphique) puis sélectionner **BF** (champ lumineux).

Le graphique affiche la distribution selon la taille du nombre total de cellules (nombre de cellules vs taille des cellules en μm) et la taille moyenne des cellules comptées dans chaque canal de fluorescence.

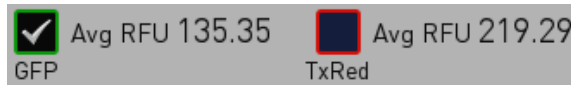


2. Pour voir la distribution des cellules selon l'intensité de fluorescence relative, appuyer sur la touche **Graph** (Graphique) puis sélectionner **FL** (fluorescence).

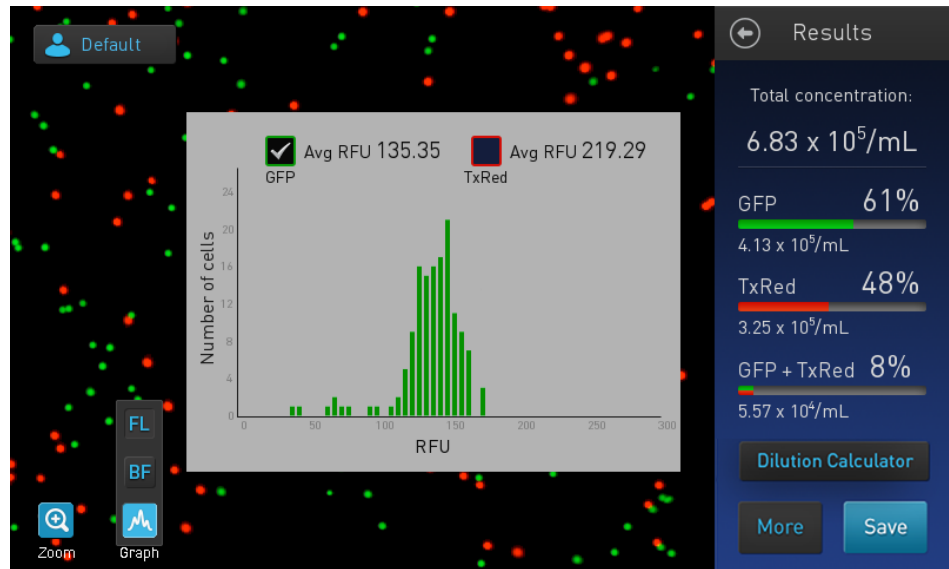
Le graphique affiche la distribution des cellules selon l'intensité de fluorescence.



3. Pour retirer du graphique les cellules comptées dans un canal spécifique, décocher la case à cocher du **canal** correspondant sur le graphique.



Le graphique met automatiquement à jour et affiche la distribution des cellules selon l'intensité de fluorescence relative, uniquement dans le canal sélectionné (c.-à-d. coché).



4. Pour ajouter au graphique les cellules comptées dans un canal spécifique, cocher à nouveau la case à cocher du **canal** correspondant sur le graphique.
5. Pour fermer le graphique, appuyer à nouveau sur la touche **Graph** (Graphique).

Borner les résultats de comptage

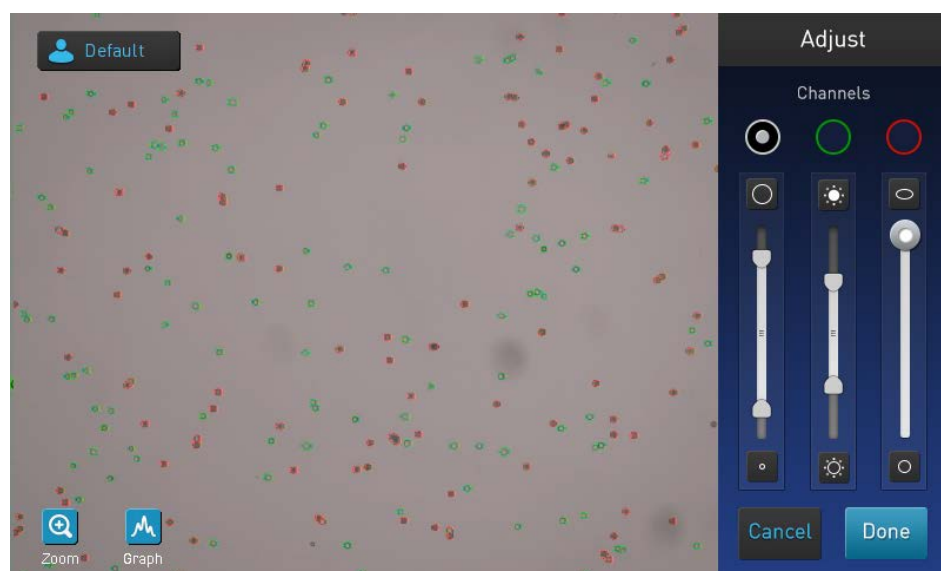
Écran Adjust (Ajuster)


L'écran **Adjust** (Ajuster) des analyses de fluorescence cellulaire comporte les commandes de bornage des résultats de comptage selon la taille, la luminosité, la circularité et l'intensité de fluorescence. Il est possible d'ajuster les paramètres de comptage avant ou après avoir effectué un comptage et d'enregistrer ces changements dans le profil actuel ou dans un profil distinct (page 41).

Borner les résultats de comptage

1. Sur l'écran **Results** (Résultats), appuyer sur la touche **More** (Plus) pour ouvrir l'écran **Advanced** (Avancé).
2. *Facultatif* : pour voir l'échantillon sous une source lumineuse spécifique (champ lumineux et/ou fluorescent), sélectionner la case à cocher des canaux souhaitée dans l'écran **Advanced** (Avancé) (page 33).
3. *Facultatif* : appuyer sur les touches de **limites** souhaitées sur l'écran **Advanced** (Avancé) pour identifier les cellules comptées dans le canal correspondant (page 36).
4. Appuyer sur la touche **Adjust** (Ajuster) pour ouvrir l'écran d'**Adjust** (Ajuster) des paramètres de comptage contenant les commandes d'ajustement des paramètres de comptage du canal sélectionné.

Remarque : pour obtenir une description des paramètres de comptage et des commandes des paramètres de comptage (c.-à-d. des curseurs de paramètres), voir page 13.



5. *Facultatif* : Appuyer sur la touche **Graph** (Graphique) pour voir la distribution des cellules selon la taille ou l'intensité de fluorescence (page 37). 
6. Sélectionner le **canal à champ lumineux** (cercle blanc) pour ajuster les seuils de taille, luminosité et circularité à l'aide des curseurs de **taille**, **luminosité** et **circularité**.
7. Sélectionner le **canal de fluorescence** souhaité (cercles colorés) pour ajuster le seuil d'intensité de fluorescence à l'aide du curseur d'**intensité de fluorescence**.

Remarque : les canaux de fluorescence disponibles peuvent varier en fonction des cubes de lumière EVOS™ installés dans l'instrument.

8. Une fois cette tâche exécutée, appuyer sur la touche **Done** (Terminé) pour enregistrer les changements des paramètres de comptage et revenir à l'écran **Advanced** (Avancé).

Appuyer sur la touche **Cancel** (Annuler) pour revenir à l'écran **Results** (Résultats) sans enregistrer les changements.

9. Sur l'écran **Advanced** (Avancé) appuyer sur la touche **Count** (Comptage) pour recalculer les résultats avec les nouveaux paramètres de comptage.
10. Pour enregistrer les changements des paramètres de taille, luminosité ou circularité dans le profil actuel ou pour créer un profil avec les nouveaux paramètres de comptage, voir page 41.

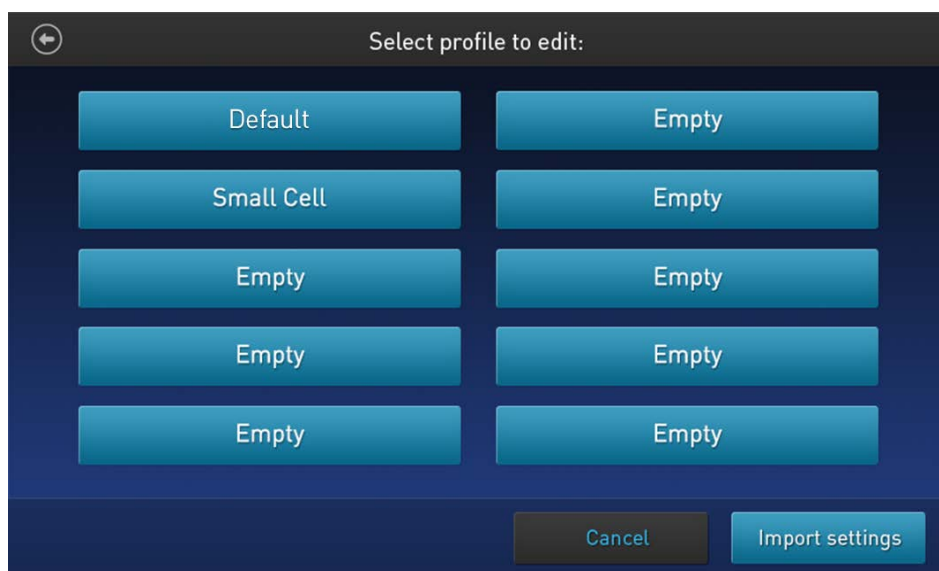
Enregistrer en tant que nouveau protocole

Modifier et enregistrer le profil en tant que nouveau protocole

1. Si des changements ont été apportés aux paramètres de comptage, le nom de profil affiché s'accompagne du symbole (*) et l'écran de résultats **Advanced** (Avancé) affiche la touche **New protocol** (Nouveau protocole), ce qui permet d'enregistrer les changements dans le profil actuel ou en tant que protocole distinct.



2. Pour enregistrer les changements des paramètres de comptage dans le profil actuel ou pour créer un nouveau profil avec les paramètres modifiés, appuyer sur la touche **New protocol** (Nouveau protocole). L'écran **Select profile to edit** (Sélection du profil à modifier) s'ouvre.



Remarque : la touche du profil actuel est sélectionnée par défaut sur l'écran **Select profile to edit** (Sélection du profil à modifier). En cas d'utilisation du profil **Default** (Défaut) pour le comptage, aucune touche de profil n'est sélectionnée sur cet écran, car le profil **Default** (Défaut) ne peut pas être modifié.

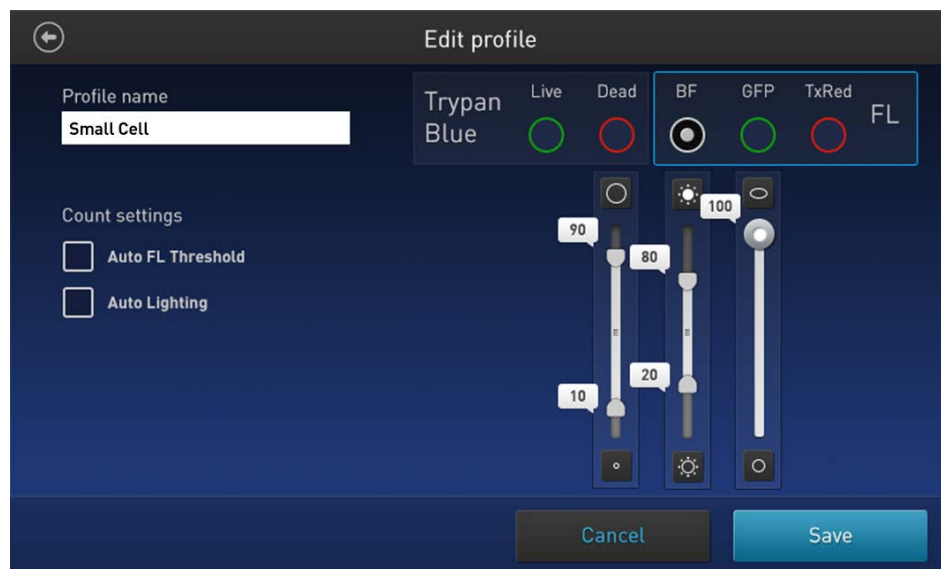
3. Sélectionner le profil à modifier puis appuyer sur la touche **Import settings**

(Importer paramètres).

Remarque : il est possible de sélectionner un profil précédemment enregistré ou un profil vide. Le profil **Default** (Défaut) ne peut pas être modifié.

4. L'écran **Edit profile** (Modifier profil) s'ouvre et affiche les paramètres de comptage modifiés à partir de l'écran **Adjust** (Ajuster) (page 39).

Remarque : si un profil précédemment enregistré est sélectionné, le nom de ce profil remplit le champ de texte **Profile name** (Nom du profil) par défaut. Sinon, le champ reste vide.



5. Pour changer le nom du profil sélectionné, appuyer sur le champ de texte **Profile name** (Nom du profil) et saisir le nom souhaité à l'aide du **clavier alphanumérique** tel qu'indiqué à la page 17.
6. *Facultatif* : le cas échéant, il est possible d'apporter des changements supplémentaires aux paramètres de comptage, tel qu'indiqué à la page 16.
7. Cliquer sur la touche **Save** (Enregistrer) pour enregistrer les paramètres du nouveau profil et revenir à la page **Results** (Résultats) pour le dernier comptage. Le nom du profil s'affiche alors sans le symbole « (*) ».

Cliquer sur la touche **Cancel** (Annuler) pour revenir à la page **Results** (Résultats) sans enregistrer les changements dans le profil. Le nom de profil s'affiche alors accompagné du symbole (*), indiquant que les paramètres de comptage du profil sélectionné ont été altérés mais non encore enregistrés.

5. Calculateur de dilution

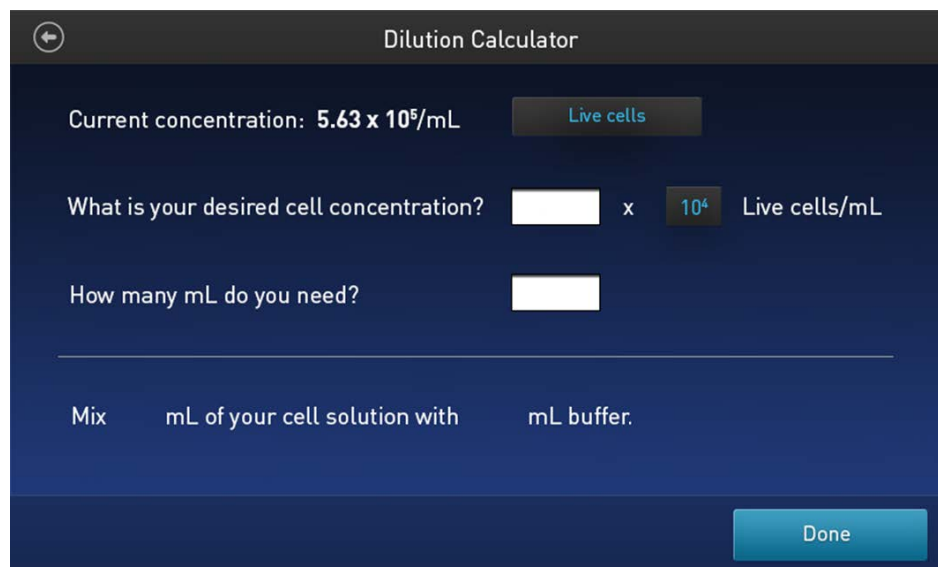
Calculer la dilution

Calculateur de dilution

La fonction de calculateur de dilution permet de calculer le volume d'échantillon de cellules et de tampon nécessaire pour obtenir la concentration souhaitée à l'aide des résultats de comptage.

Calculer la dilution

1. Sur l'écran **Results** (Résultats), appuyer sur la touche **Dilution Calculator** (Calculateur de dilution) pour ouvrir l'écran **Dilution calculator** (Calculateur de dilution).



Dilution Calculator

Current concentration: 5.63×10^5 /mL Live cells

What is your desired cell concentration? x 10^4 Live cells/mL

How many mL do you need?

Mix mL of your cell solution with mL buffer.

Done

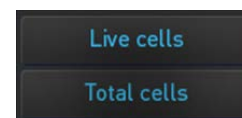
2. Appuyer sur la touche **type de cellule** située à droite de la concentration actuelle puis sélectionner le résultat de comptage à utiliser pour le calcul de dilution à partir du menu déroulant. La **Current concentration** (Concentration actuelle) change pour refléter le résultat du type de cellule sélectionné.



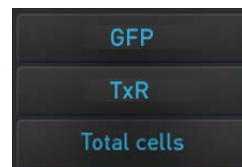
Current concentration: 5.63×10^5 /mL Live cells
Total cells

Les **types de cellules** disponibles sont les suivants :

- Pour le comptage de cellules et les analyses de viabilité en champ lumineux : **Live cells** (Cellules vivantes) ou **Total cells** (Cellules totales). **Live cells** (Cellules vivantes) est sélectionné par défaut.
- Pour les analyses de fluorescence : **Channel 1** (Canal 1), **Channel 2** (Canal 2) ou **Total cells** (Cellules totales) (canal 1 + canal 2). **Total cells** (Cellules totales) est sélectionné par défaut.



Live cells
Total cells



GFP
TxR
Total cells

Remarque : le nom du canal 1 et du canal 2 affiché dans le menu déroulant dépend du cube de lumière EVOS™ installé. Dans l'exemple suivant, les cubes GFP et TxRed ont été installés et le menu déroulant propose GFP et TxR.

3. Entrer la **concentration cellulaire souhaitée** (« What is your desired cell concentration? » (Quelle est la concentration cellulaire souhaitée ?)) :
 - a. Appuyer sur le champ de texte **valeur** et entrer la valeur à l'aide du pavé numérique.

Current concentration: **5.63 x 10⁵/mL** Live

What is your desired cell concentration? ells/mL

How many mL do you need?

Il est possible de saisir un chiffre à gauche du séparateur décimal (nombre entier) et un chiffre à droite (partie décimale). Si aucun chiffre décimal n'est saisi, le logiciel entre un 0 par défaut.

Appuyer sur la touche **Enter** (Entrée) ou n'importe où en dehors du pavé numérique pour le fermer.

- b. Appuyer sur la touche de l'**exposant**, puis sélectionner la valeur de l'exposant de la concentration souhaitée.

Current concentration: **5.63 x 10⁵/mL** Live cells

What is your desired cell concentration? x Live cells/mL

How many mL do you need?

Par défaut, l'exposant est (n-1), où n = la valeur de l'exposant du comptage actuel. L'exposant maximal pouvant être sélectionné est le même que celui du comptage actuel.

Appuyer sur une touche d'exposant sélectionne cet exposant et ferme la fenêtre. Appuyer n'importe où en dehors de la fenêtre conserve l'exposant précédemment sélectionné et ferme la fenêtre.

4. Appuyer sur le champ de texte **volume total** (« How many mL do you need? » (Combien de ml vous faut-il ?)), puis entrer le volume total d'échantillon souhaité à la nouvelle concentration à l'aide du pavé numérique.

Current concentration: **5.63 x 10⁵/mL** Live cells

What is your desired cell concentration? ells/mL

How many mL do you need?

Par défaut, la boîte de volume total est vierge. Le volume maximal pouvant être saisi est 999,9 ml et une seule décimale est autorisée.

Appuyer sur la touche **Enter** (Entrée) ou n'importe où en dehors du pavé numérique pour fermer le pavé numérique.

5. Une fois que des entrées valides relatives au type de cellule, à la concentration souhaitée et au volume total ont été saisies et que la dernière fenêtre contextuelle a été fermée, la ligne inférieure du calculateur de dilution affiche les volumes de solution cellulaire et de tampon nécessaires.

Dilution Calculator

Current concentration: 5.63×10^5 /mL Live cells

What is your desired cell concentration? x Live cells/mL

How many mL do you need?

Mix **1.56** mL of your cell solution with **10.44** mL buffer.

Done

Si la combinaison de valeurs saisies est invalide (c.-à-d. que la concentration souhaitée est supérieure à la concentration actuelle), la ligne de résultat reste (ou redevient) vierge et un message d’alerte s’affiche à l’écran.

Mix mL of your cell solution with mL buffer.
Desired concentration is greater than current concentration

Si des changements quels qu’ils soient sont apportés aux zones d’entrée ci-dessus, les résultats sont automatiquement recalculés à la fermeture de la fenêtre contextuelle.

6. Appuyer sur la touche **Done** (Terminé) ou **Back** (Retour) pour revenir à l’écran principal **Results** (Résultats).

6. Enregistrer les résultats

Enregistrer les résultats de comptage

Écran d'enregistrement

Le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL permet d'enregistrer les données et les images à l'aide d'une clé USB.

Pour sauvegarder l'expérience, choisir l'une des options suivantes, quelle qu'en soit la combinaison :

- **Results** (Résultats) : enregistre l'écran **Results** (résultats) tel qu'il est affiché sur l'instrument, avec ou sans graphique, au format d'image sélectionné (JPEG, BMP, PNG ou TIFF).
- **Images** (Images) : enregistre uniquement les images brutes capturées au format d'image sélectionné (JPEG, BMP, PNG ou TIFF).
- **Data** (Données) : enregistre les données de l'expérience sous forme de fichier CSV (valeurs séparées par des virgules). Le format CSV permet de traiter ou d'afficher à nouveau les résultats à l'aide de n'importe quel logiciel tiers ou tableur. Pour obtenir plus d'informations sur le format de fichier CSV, voir « Annexe D : Format de fichier CSV » page 67.
- **Report** (Rapport) : enregistre un rapport imprimable comprenant les résultats, le ou les graphiques et l'image au format sélectionné (PDF, PNG ou JPEG). Pour plus d'informations, voir « Rapport », page 49.



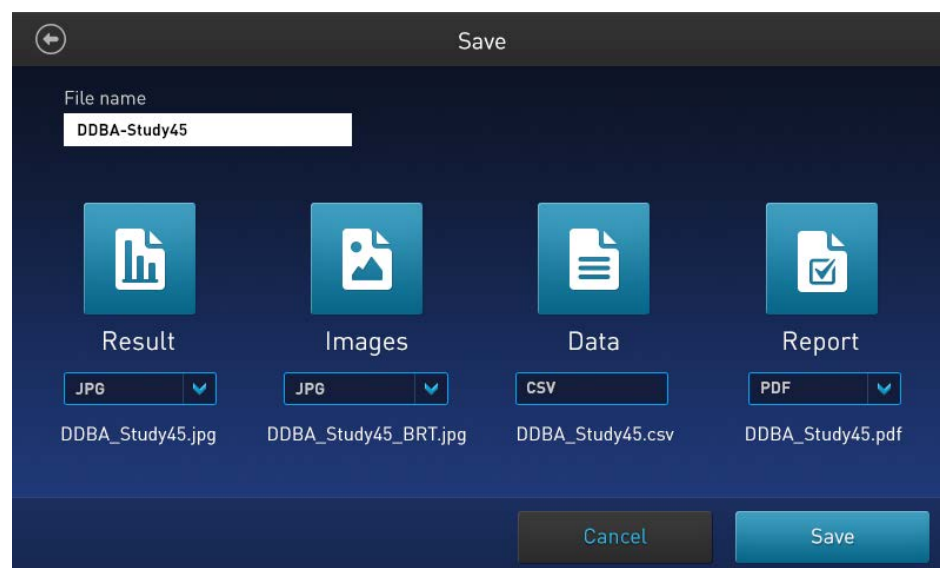
Remarque : il est possible d'enregistrer les résultats avec le graphique montrant la distribution des cellules selon la taille des cellules ou l'intensité de fluorescence. Pour cela, s'assurer que le graphique souhaité est affiché sur l'écran **Results** (Résultats).

Procédure d'enregistrement

1. Pour enregistrer vos données, insérer la clé USB Countess™ II (ou équivalente) dans un port USB disponible de l'instrument (page 9).

Remarque : les ports USB situés à l'avant et à l'arrière de l'instrument fonctionnent de la même façon. Cependant, la première clé USB connectée sera l'emplacement de sauvegarde privilégié.

2. Sur l'écran **Results** (Résultats), appuyer sur la touche **Save** (Enregistrer) pour accéder à l'écran **Save** (Enregistrer).



3. Pour attribuer un nom à l'expérience, appuyer sur le champ de texte **File name** (Nom de fichier). Le **clavier alphanumérique** s'ouvre.



File name
DDBA-Study45

4. Saisir le nom de fichier souhaité à l'aide du **clavier alphanumérique**.
Pour saisir des symboles, appuyer sur la touche **symbole (@%&)**. Pour revenir au clavier alphanumérique, appuyer sur la touche **ABC**.

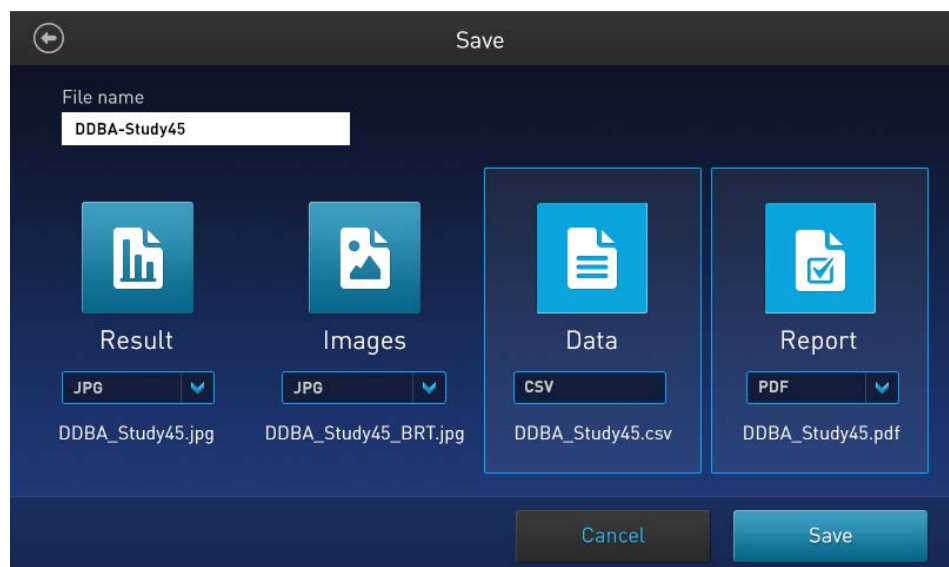


5. Appuyer sur la touche **Enter** (Entrée) pour enregistrer le nom et revenir à l'écran **Save** (Enregistrer).

Pour revenir à l'écran **Save** (Enregistrer) sans enregistrer le nom, appuyer sur la touche **Close** (Fermer).

6. Sélectionner le mode souhaité pour enregistrer l'expérience (**Result** (Résultats), **Images** (Images), **Data** (Données), **Report** (Rapport)). Il est possible de sélectionner un mode individuel (p. ex. **Result** (Résultat) uniquement) ou n'importe quelle combinaison de modes (p. ex. **Result** (Résultat), **Images** (**Images**), **Data** (Données) et/ou **Report** (Rapport)).

Dans l'exemple ci-dessous, **Data** (Données) et **Report** (Rapport) ont été sélectionnés.



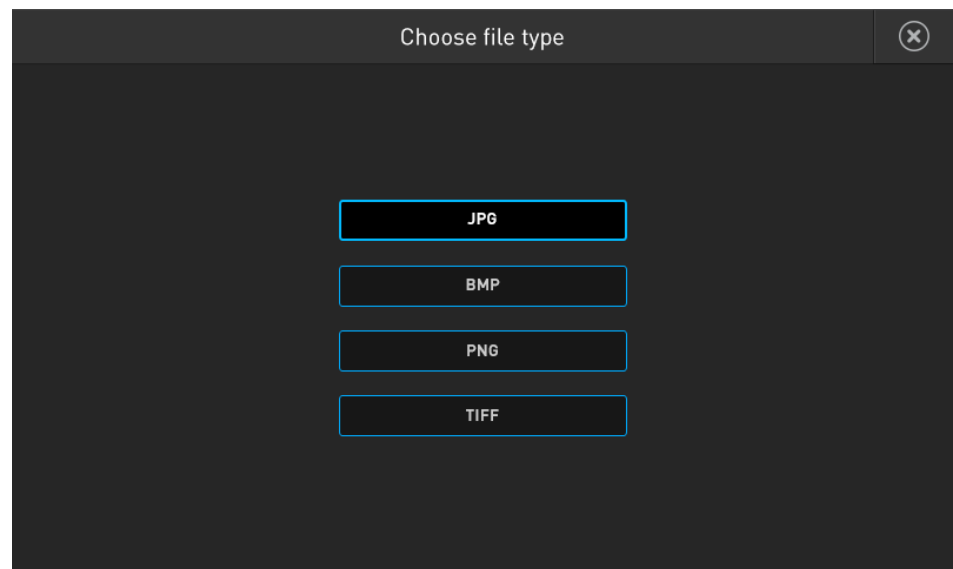
7. Par défaut, **Result** (Résultat) et **Images** (Images) sont enregistrés sous forme de fichiers JPEG et **Report** (Rapport) en PDF.

Pour choisir un format de fichier différent, appuyer sur la touche **file type** (type de fichier). L'écran **Choose file type** (Choisir le type de fichier) s'ouvre.



Remarque : les données ne peuvent être enregistrées qu'au format de fichier CSV.

8. Appuyer pour sélectionner le **type de fichier** souhaité. Les options disponibles sont **JPEG**, **BMP**, **PNG** et **TIFF**.

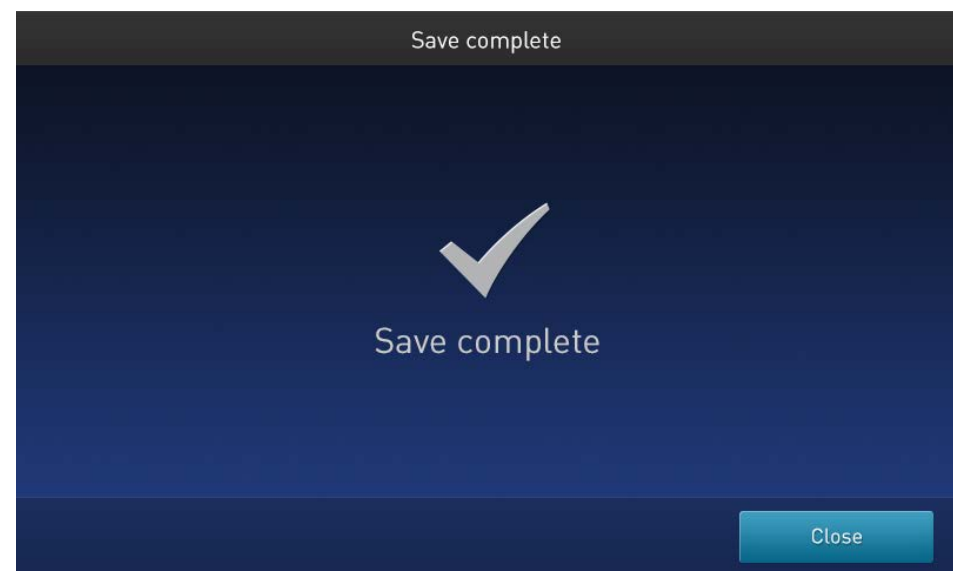


Une fois la sélection effectuée, l'instrument revient sur l'écran **Save** (Enregistrer).



Pour revenir à l'écran **Save** (Enregistrer) sans changer le format du fichier, appuyer sur la touche **Close** (Fermer).

9. Appuyer sur la touche **Save** (Enregistrer) pour sauvegarder l'expérience au(x) mode(s) sélectionné(s) sur la clé USB.



10. Appuyer sur la touche **Close** (Fermer) puis transférer le contenu de la clé USB à l'emplacement souhaité.

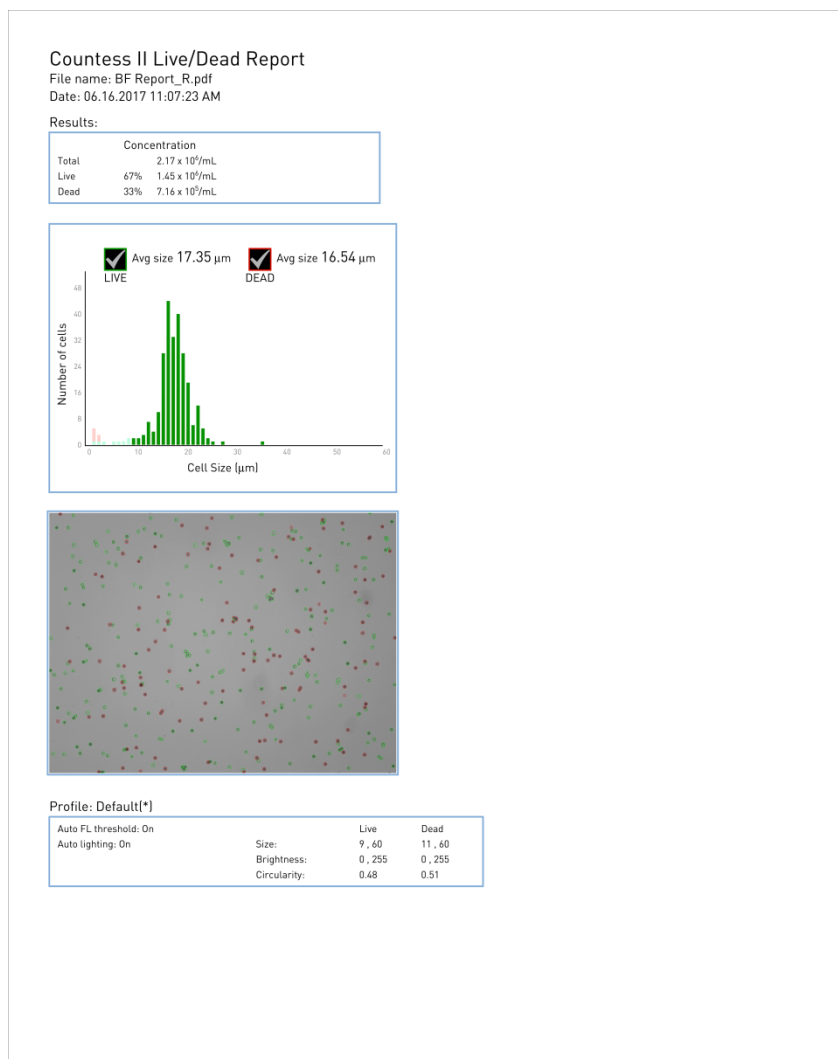
Rapport

Fichier du rapport

La fonction Rapport permet d'enregistrer un rapport imprimable comprenant les résultats, le ou les graphiques et l'image au format sélectionné (PDF, PNG ou JPEG).

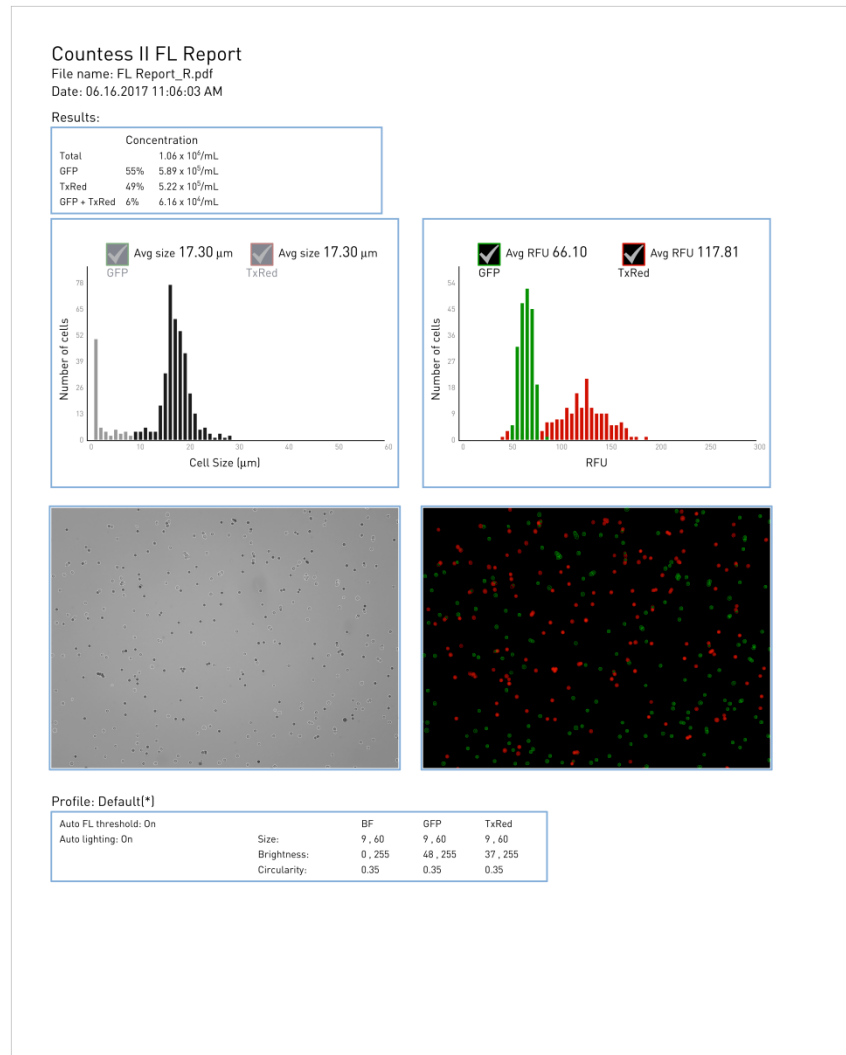
Il est possible de créer des rapports à l'aide du menu déroulant **Rapport** (Rapport) tel qu'indiqué dans « Enregistrer les résultats de comptage », à la page 46.

Rapport du comptage à champ lumineux



- La section supérieure du rapport contient un tableau dans lequel les résultats sont affichés comme sur l'écran **Results** (Résultats) du Countess™ avec la concentration de l'échantillon, le pourcentage et le nombre pour les canaux totaux, vivants et morts.
- Sous le tableau de résultats, le rapport contient le graphique indiquant le « nombre de cellules vs la taille des cellules ».
- Sous le graphique, le rapport contient l'image du comptage en champ lumineux avec les cellules vivantes et mortes identifiées par des cercles verts et rouges, respectivement.
- En bas du rapport figurent les informations relatives au profil utilisé pour borner ces images.

Rapport du comptage par fluorescence



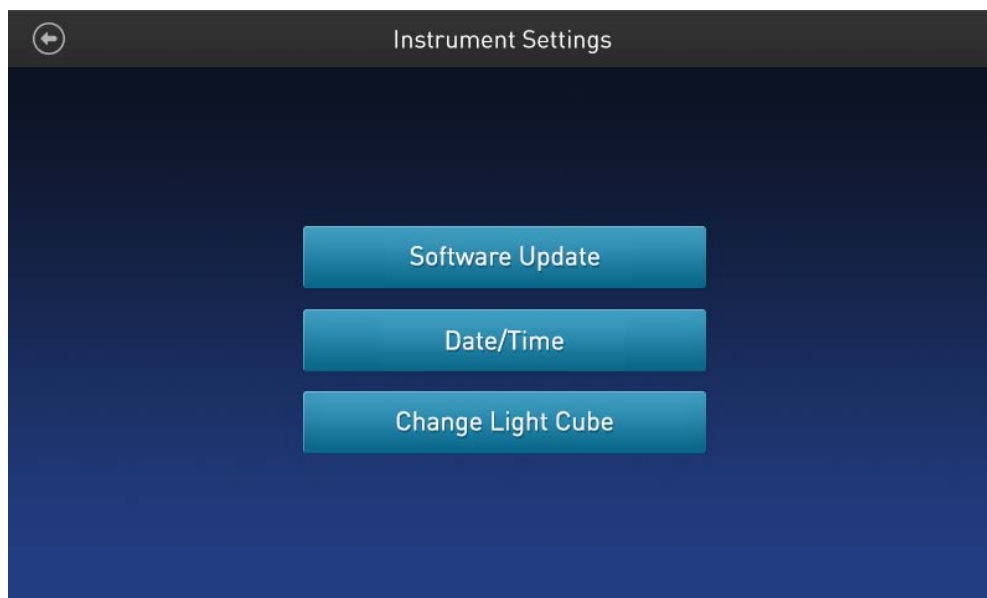
- La section supérieure du rapport contient un tableau dans lequel les résultats sont affichés comme sur l'écran **Results** (Résultats) du Countess™ avec la concentration de l'échantillon, le pourcentage et le nombre de cellules pour les canaux totaux, FL1, FL2, et FL1 + FL2.
- Sous le tableau de résultats, le rapport contient le graphique indiquant le « nombre de cellules vs la taille des cellules » à gauche et le graphique indiquant le « nombre de cellules vs UFR (unités de fluorescence relative) » à droite.
- Sous les graphiques, le rapport contient les images du comptage, avec l'image en champ lumineux à gauche et les images de fluorescence à droite.
 Dans l'image en champ lumineux, les cellules comptées dans le canal à champ lumineux sont identifiées par les cercles blancs de « comptage total ».
 Dans l'image de fluorescence (superposée s'il y a deux canaux), les cellules comptées sont identifiées par des cercles de la même couleur que le canal de fluorescence dans lequel elles ont été comptées (de deux couleurs différentes si deux cubes sont installés).
- En bas du rapport figurent les informations relatives au profil utilisé pour borner ces images.

7. Paramètres de l'instrument

Présentation

Écran Instrument Settings (Paramètres de l'instrument)

Pour accéder à l'écran **Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument), appuyer sur la touche **Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument) sur la page **Home** (Accueil) (page 11).



L'écran **Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument) permet de :

- Faire une mise à jour du logiciel (page 52).
- Définir la date et l'heure (page 53).
- Remplacer ou installer le cube de lumière EVOS™ (page 55).

Mise à jour du logiciel

Consignes de mise à jour du logiciel

- La clé USB utilisée pour transférer le fichier de mise à jour du logiciel doit être au format FAT32 ; s'assurer que c'est bien le cas avant de lancer la mise à jour. Le cas échéant, reformater la clé USB au format FAT32 en suivant la procédure recommandée selon le système d'exploitation.


Remarque : reformater la clé USB va entraîner la perte de tous les fichiers. Sauvegarder les fichiers sur la clé USB avant de procéder au reformatage.

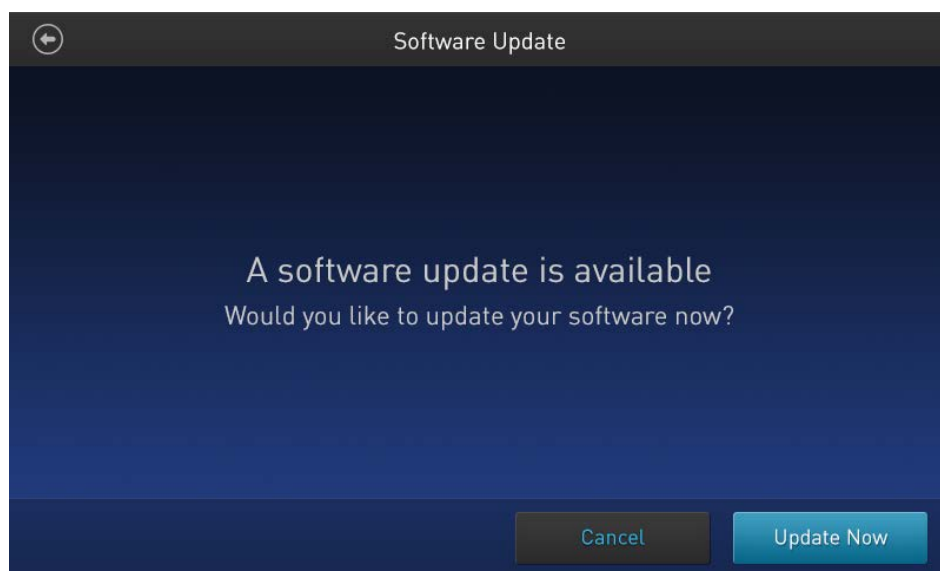
- Le fichier de mise à jour du logiciel doit être enregistré au niveau supérieur de la clé USB, et non dans un dossier ou un sous-dossier.
- Le fichier de mise à jour du logiciel ne doit pas être corrompu pendant le transfert. Ne pas renommer, enregistrer au format zip ou compresser le fichier de mise à jour du logiciel.

Mise à jour du logiciel Countess™ II/II FL

1. Aller à l'adresse www.thermofisher.com/countessupdate et télécharger la dernière version du logiciel Countess™ II/II FL sur le bureau de l'ordinateur.

Remarque : le fichier de mise à jour du logiciel a un nom spécifique à la version suivi de l'extension .lft (p. ex. Countess_II_v_1_0_202.lft pour la version 1.0.202 du logiciel).


2. Copier le fichier de mise à jour du logiciel sur la clé USB en veillant à l'enregistrer au niveau supérieur et non caché dans un dossier.
3. Connecter la clé USB à l'un des ports USB de l'instrument (page 9).
4. Appuyer sur la touche **Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument) sur la page Home (Accueil) (page 11) pour ouvrir l'écran Instrument Settings (Paramètres de l'instrument) (page 51). 
5. Sélectionner **Software Update** (Mise à jour logiciel) à partir du menu **Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument). L'instrument balaye la clé USB pour détecter la dernière version du logiciel.

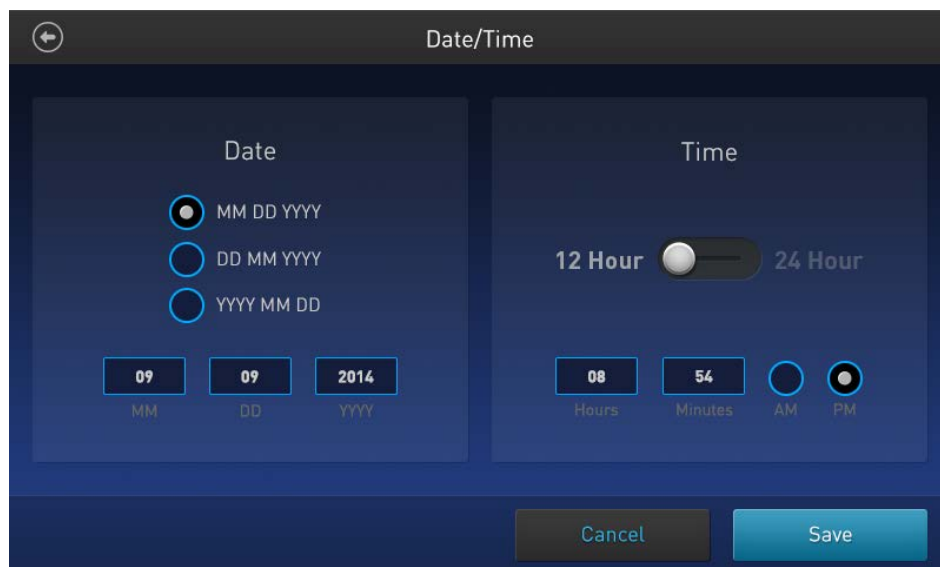


6. À l'invite, sélectionner **Update Now** (Mettre à jour maintenant).
7. Une fois la mise à jour terminée, redémarrer l'instrument.

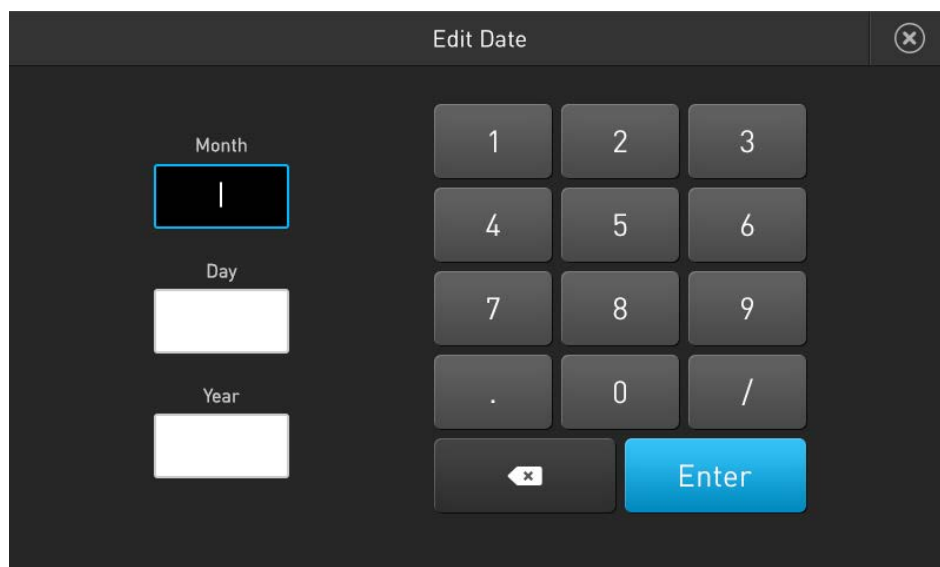
Date/heure


Régler la date et l'heure

1. Appuyer sur la touche **Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument) sur la page **Home** (Accueil) (page 13) pour ouvrir l'écran **Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument). 
2. Appuyer sur la touche **Date/Time** (Date/Heure) dans le menu **Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument) pour ouvrir l'écran **Date/Time** (Date/Heure).

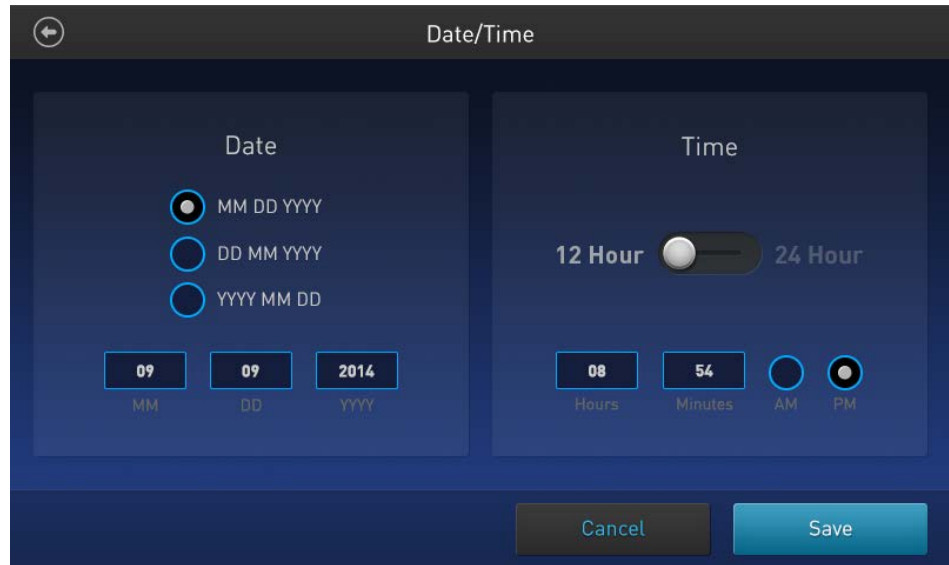


3. Sélectionner le **format de date** à utiliser.
4. Appuyer sur n'importe quel champ de texte **Date** (Date) (**MM**, **DD** (JJ) ou **YYYY** (AAAA)) pour ouvrir le pavé numérique **Edit Date** (Modifier date).

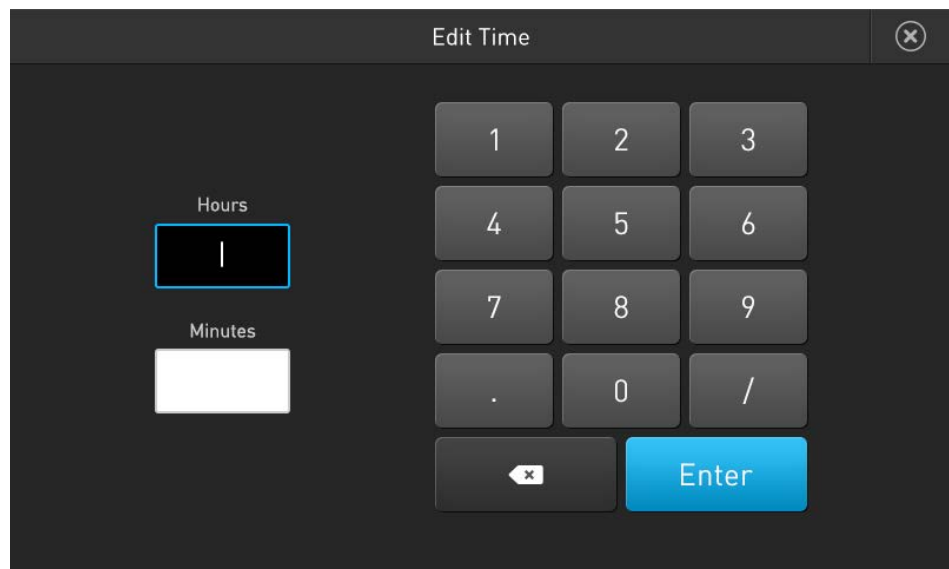



5. À l'aide du pavé numérique, saisir la date dans les champs de texte **Month** (Mois), **Day** (Jour) et **Year** (Année), en appuyant sur **Enter** (Entrée) après chaque saisie.
6. Une fois la date saisie, appuyer sur la touche **Close** (Fermer) pour revenir à l'écran **Date/Time** (Date/Heure). 

7. Sélectionner le **format d'heure** à utiliser. Les **formats 12 Hour** (12 heures) et **24 Hour** (24 heures) sont disponibles.



8. Appuyer sur n'importe quel champ de texte **Time** (Heure) **Hours** (Heures) ou **Minutes** (Minutes) pour ouvrir le pavé numérique **Edit Time** (Modifier heure).




9. À l'aide du pavé numérique, saisir l'heure dans les champs de texte **Hours** (Heures) et **Minutes** (Minutes), en appuyant sur **Enter** (Entrée) après chaque saisie.
10. Une fois l'heure saisie, appuyer sur la touche **Close** (Fermer) pour revenir à l'écran **Date/Time** (Date/Heure). 
11. Si le format sélectionné est le **format 12 Hour** (12 heures), sélectionner **AM** ou **PM**.
12. Appuyer sur la touche **Save** (Enregistrer) pour régler la date et l'heure et revenir à l'écran **Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument).
Appuyer sur la touche **Cancel** (Annuler) pour revenir à l'écran **Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument) sans enregistrer les changements.

Remplacer le cube de lumière

Installer ou remplacer le cube de lumière EVOS™

Le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL peut accueillir jusqu'à deux cubes de lumière EVOS™. Chaque cube de lumière EVOS™ remplaçable par l'utilisateur, configuré automatiquement contient une LED, des optiques collimateurs et des filtres pour l'application de fluorescence. Les cubes de lumière EVOS™ ne sont pas fournis de série avec l'appareil et doivent être achetés séparément (page 65). Pour installer ou remplacer un cube de lumière :

1. Appuyer sur la touche **Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument) sur la page **Home** (Accueil) (page 11) pour ouvrir l'**écran Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument). 
2. Appuyer sur la touche **Change Light Cube** (Remplacer cube de lumière). L'instrument positionne le plateau du cube de lumière pour permettre son installation.
3. À l'invite, mettre le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL hors service à l'aide de l'**interrupteur d'alimentation** situé à l'arrière de l'instrument (page 9).
4. Débrancher le cordon d'alimentation du compteur automatisé de cellules Countess™ II FL.
5. Ouvrir le panneau arrière à l'aide des deux fixations 1/4 de tour (désignées par des flèches rouges) qui maintiennent le panneau arrière du compteur automatisé de cellules Countess™ II FL puis le retirer.

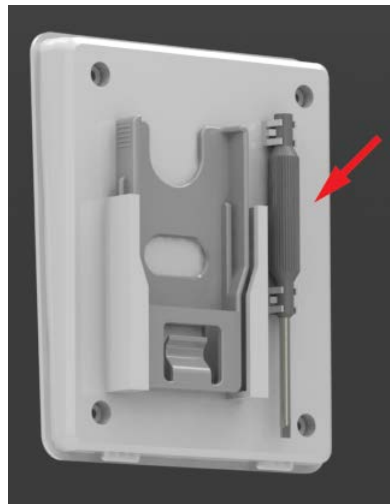


- Placer le cube de lumière dans l'un des emplacements vides à l'arrière de l'appareil.

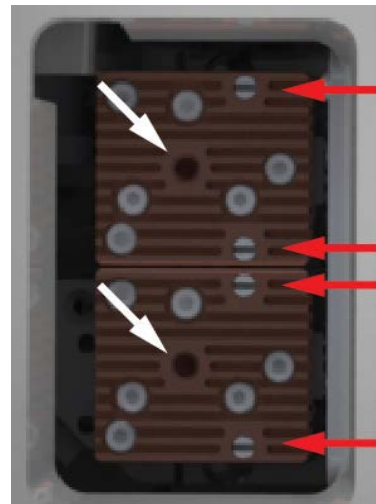


- À l'aide de l'outil fourni placé à l'intérieur du panneau arrière (figure A), fixer le cube de lumière en serrant les deux vis à l'extrémité du cube (flèches rouges sur la figure B).

A



B



- Pour retirer un cube de lumière, dévisser les deux vis qui le maintiennent fixé sur l'instrument.
- Passer l'outil de retrait du cube de lumière dans l'orifice central du cube (flèches blanches sur la figure B ci-dessus) et tirer doucement le cube de lumière hors de l'appareil.
Remarque : ranger l'outil de retrait du cube de lumière dans le panneau arrière pour l'avoir toujours à portée de main.
- Installer le panneau arrière à sa place et le fixer à l'aide des deux fixations 1/4 de tour.
- Brancher le cordon d'alimentation du compteur automatisé de cellules Countess™ II FL.
- Allumer le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL en basculant l'**interrupteur d'alimentation** situé à l'arrière de l'instrument en position ON (MARCHE).

8. Maintenance

Entretien de l'instrument

Consignes générales d'entretien

- Utiliser les solutions de nettoyage adaptées pour chaque composant, tel qu'indiqué dans les procédures de nettoyage à la page 58.
- Si du liquide s'écoule sur l'instrument, le mettre immédiatement hors tension et l'essuyer.

Alimentation

Toujours utiliser l'alimentation adaptée. Les spécifications de l'adaptateur secteur figurent sur l'étiquette du numéro de série (en bas de l'instrument) et dans le chapitre « Spécifications techniques » du présent guide de l'utilisateur (page 64). Tout dommage dû à un adaptateur secteur incompatible n'est pas couvert par la garantie.



ATTENTION ! Ne jamais démonter ou entretenir l'instrument vous-même. Ne pas enlever les couvercles ou pièces qui nécessitent l'utilisation d'un outil pour accéder aux pièces mobiles. Les opérateurs doivent être formés avant d'être autorisé à effectuer des opérations dangereuses. Les réparations non autorisées peuvent endommager l'instrument ou en altérer la fonctionnalité, ce qui peut annuler la garantie. Contacter le distributeur local pour effectuer l'entretien.



IMPORTANT ! En cas de doute quant à la compatibilité de la décontamination ou des produits de nettoyage avec certaines pièces de l'équipement ou avec le matériel contenu dans celui-ci, contacter le support technique (page 82) ou le distributeur local pour plus d'informations.

Nettoyer le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL

Introduction

Nettoyer le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL régulièrement afin d'éviter une accumulation de poussière et de saletés qui pourraient affecter ses performances et entraîner une contamination.



ATTENTION ! Pour éviter une électrocution, toujours mettre le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL HORS TENSION et débrancher le cordon d'alimentation avant de procéder au nettoyage ou à la décontamination de l'instrument.



ATTENTION ! Tous les échantillons et matériaux biologiques qui entrent en contact entre eux peuvent potentiellement transmettre des maladies infectieuses et sont considérés comme biologiquement dangereux. Respecter toutes les réglementations locales, nationales et/ou communautaires. Porter des lunettes de protection, des vêtements et des gants adaptés.



IMPORTANT ! Utiliser une méthode de nettoyage ou de décontamination aut par le fabricant pourrait endommager l'instrument.

Nettoyer l'écran tactile

- Nettoyer l'écran tactile du compteur automatisé de cellules Countess™ II FL à l'aide d'un chiffon doux, non pelucheux imbibé d'une solution de nettoyage LCD. Ne pas appliquer une force excessive pendant le nettoyage. Essuyer l'écran tactile immédiatement après le nettoyage.
- S'assurer que la solution de nettoyage ne pénètre pas dans l'instrument via le bouton d'alimentation, l'entrée d'alimentation, le port à lame ou les ports USB.
- Ne jamais verser ou vaporiser un liquide directement sur l'instrument pour éviter tout risque d'électrocution lorsque l'instrument est branché.
- Ne pas utiliser de solutions de nettoyage ou matériaux abrasifs afin de ne pas rayer l'écran tactile.

Nettoyer le boîtier de l'instrument

- Nettoyer le boîtier du compteur automatisé de cellules Countess™ II FL à l'aide d'un chiffon doux, non pelucheux imbibé d'eau distillée. Essuyer l'instrument immédiatement après le nettoyage.
- S'assurer que l'eau ou les autres solutions de nettoyage ne pénètrent pas dans l'instrument via le bouton d'alimentation, l'entrée d'alimentation, le port à lame ou les ports USB.
- Ne jamais verser ou vaporiser un liquide directement sur l'instrument pour éviter tout risque d'électrocution lorsque l'instrument est branché.

Décontamination de l'instrument

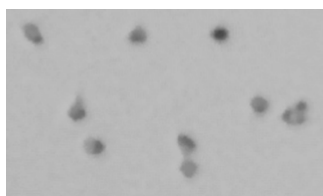
- Nettoyer le boîtier du compteur automatisé de cellules Countess™ II FL à l'aide d'un chiffon doux, non pelucheux imbibé d'alcool à 70 %. Essuyer l'instrument immédiatement après le nettoyage.
- Éviter d'utiliser de l'eau de Javel, car elle risque de laisser des dépôts de cristaux de Javel sur l'instrument.
- S'assurer que l'eau ou les autres solutions de nettoyage ne pénètrent pas dans l'instrument via le bouton d'alimentation, l'entrée d'alimentation, le port à lame ou les ports USB.
- Ne jamais verser ou vaporiser un liquide directement sur l'instrument pour éviter tout risque d'électrocution lorsque l'instrument est branché.

Régler la mise au point nominale

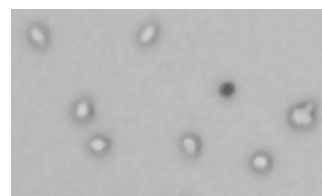
Présentation

La mise au point nominale correspond au point Z (c.-à-d. profondeur) autour duquel la fonction de mise au point automatique effectue sa recherche, pour obtenir une mise au point précise de l'échantillon.

L'algorithme de mise au point automatique du compteur automatisé de cellules Countess™ II FL est conçu pour mettre en évidence les différences entre les cellules vivantes et mortes dans le canal à champ lumineux. Lorsque le niveau de mise au point est optimal, les cellules « vivantes » ont un centre de couleur claire et les cellules « mortes » sont entièrement sombres (voir les exemples ci-dessous).



Mise au point non optimale

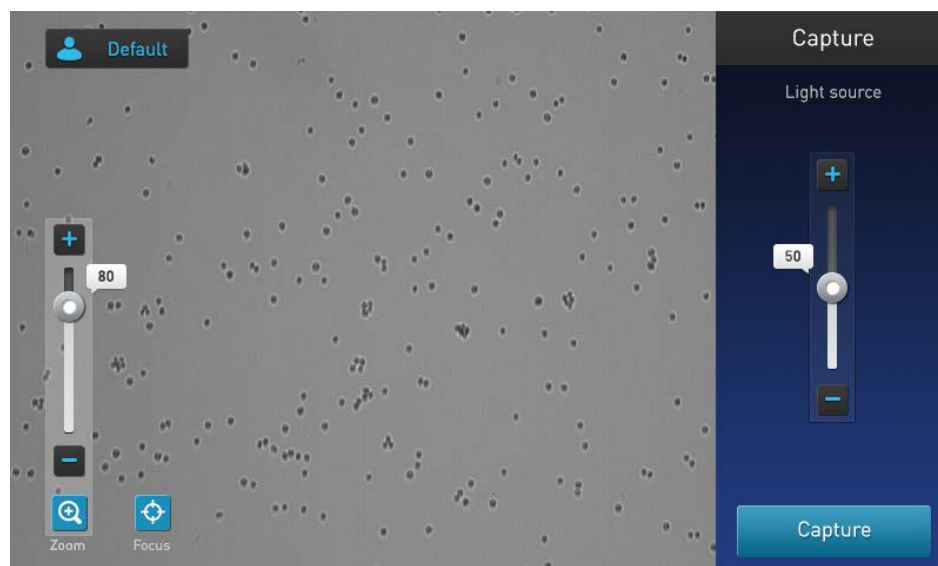


Mise au point optimale

Pour activer la fonction de mise au point automatique optimale, il est parfois nécessaire d'affiner d'abord la mise au point du champ lumineux en le réglant manuellement puis en réglant la mise au point nominale. Cela permet à la fonction de mise au point automatique d'avoir un point de consigne à partir duquel la mise au point sur les cellules se fera dans les échantillons suivants.

Régler la mise au point nominale

1. Préparer l'échantillon en ajoutant 10 µl de la suspension cellulaire à 10 µl de bleu de trypan à 0,4 %. Bien mélanger l'échantillon en l'agitant de haut en bas plusieurs fois.
2. Charger 10 µl de l'échantillon sur la lame de comptage de cellules à chambres Countess™ (page 18) ou la lame réutilisable Countess™ II FL (page 21). Laisser l'échantillon reposer pendant 30 secondes pour obtenir un plan focal uniforme.
3. Insérer la lame d'échantillons dans le port à lame de l'instrument (page 9) en veillant à ce que l'extrémité contenant l'échantillon soit complètement insérée.
4. Une fois la lame insérée, l'instrument éclaire automatiquement l'échantillon, définit l'intensité de l'éclairage du champ lumineux et effectue une mise au point automatique sur les cellules.

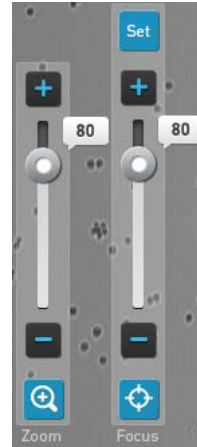


5. Pour ajuster manuellement la mise au point, appuyer sur la touche **Focus**

(Mise au point).



6. Utiliser le **curseur Focus** (Mise au point) ou les touches **plus et moins** pour affiner la mise au point du champ lumineux.



Remarque : si nécessaire, **zoomer** sur l'image pour ajuster la mise au point ou l'éclairage.



7. Après avoir trouvé la mise au point optimale, appuyer sur la touche **Set** (Réglage) pour régler la mise au point nominale.



Une fois la mise au point réglée, la touche de réglage du curseur de mise au point devient inactive, confirmant que le réglage de la mise au point a été mémorisé.

Annexe A : Résolution des problèmes



Remarque : le logiciel Countess™ II FL est mis à jour régulièrement. En cas de problèmes avec les expériences, vérifier d'abord sur le site Internet si une nouvelle version du logiciel est disponible. Il est possible de télécharger la version la plus récente du logiciel à l'adresse www.thermofisher.com/countessupdate. Il est également possible d'enregistrer l'instrument Countess™ II FL à l'adresse www.thermofisher.com/registercountess pour être informé des mises à jour futures du logiciel.

Problème	Solutions possibles
Éclairage irrégulier de l'écran (l'écran est sombre d'un côté et plus lumineux de l'autre)	Réinitialiser le plateau du cube de lumière en sélectionnant Change Light Cube (Remplacer cube de lumière) sur l'écran Instrument Settings (Paramètres de l'instrument) (page 51).
La mise au point automatique ne semble pas se concentrer très bien sur les cellules	<ul style="list-style-type: none"> • Vérifier qu'il n'y a pas de bulles ou de débris visibles sur l'écran qui pourraient interférer avec la mise au point automatique et rendre difficile le placement de l'échantillon dans le bon plan focal. • Idéalement, les cellules vivantes doivent avoir des centres plus lumineux que les cellules mortes qui sont entièrement sombres (page 59). • Régler la mise au point nominale améliorera la cohérence de la mise au point automatique des futures lames. Pour régler la mise au point nominale, voir page 59.
Certaines cellules apparaissent sur l'image mais ne sont pas incluses dans le comptage	<ul style="list-style-type: none"> • Pour le comptage des cellules et les analyses de viabilité cellulaire effectués dans le champ lumineux, ajuster les bornes de taille, luminosité et circularité des cellules vivantes et mortes pour que toutes les cellules soient incluses au comptage (page 28). • Pour les analyses de fluorescence, ajuster les bornes de taille, luminosité, circularité et intensité de fluorescence dans tous les canaux disponibles pour que toutes les cellules soient incluses au comptage (page 39). • Après avoir inclus toutes les cellules au comptage, il est possible d'affiner les critères de comptage afin d'exclure les cellules ayant une certaine taille ou une certaine luminosité. • Lorsque les bornes sont exploitées au maximum, le CSV doit indiquer 0–60 pour la taille des cellules et 0–255 pour la luminosité.
Les images sont très claires et délavées	Activer Auto Lighting (Éclairage auto) à partir du menu Profiles (Profils) ou diminuer l'intensité lumineuse du champ lumineux avant de procéder au comptage des cellules.
La fluorescence est extrêmement brillante et pénètre dans d'autres filtres	Diminuer l'intensité de la lumière fluorescente avant de procéder au comptage des cellules.

<p>Obtention d'une concentration incorrecte avec les billes de test Countess™</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Les billes peuvent reposer rapidement dans la solution, ce qui affecte la lecture de la concentration. • Bien agiter les billes pendant 30 secondes pour les remettre en suspension puis ajouter 10 µl du mélange de billes en suspension à 10 µl de bleu de trypan. • Agiter la solution de billes et de bleu de trypan de haut en bas plusieurs fois pour s'assurer qu'il est bien mélangé puis charger immédiatement 10 µl sur la lame.
<p>Résultats différents pour le même échantillon de cellules</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Si les différents échantillons proviennent du même lot de cellules, la variabilité peut être due au pipetage ou au mélange. • Utiliser des pipettes récemment étalonnées et vérifier que les cellules sont bien en suspension en agitant plusieurs fois de haut en bas avant d'ajouter le bleu de trypan. • Agiter la solution de billes et de bleu de trypan de haut en bas plusieurs fois pour s'assurer qu'il est bien mélangé puis charger immédiatement 10 µl sur la lame.
<p>Résultats différents lors de l'exécution de comptages répétés de la même lame</p>	<ul style="list-style-type: none"> • S'il s'agit du comptage de répliquats de la même lame exactement, vérifier que toutes les cellules sont comptées correctement sur l'image. • Il peut y avoir un champ visuel légèrement différent chaque fois qu'une lame est insérée. Il peut y avoir une certaine variabilité lors du comptage de répliquats de la même lame, en fonction de la concentration et de l'uniformité des cellules, mais elle devrait être inférieure à 10 %. • Lors du comptage d'un faible nombre de cellules, un petit changement du champ visuel pour un petit nombre de cellules peut avoir un effet important. Compter les cellules à une concentration supérieure pour réduire la variabilité. • Veiller à ne pas secouer ou agiter les lames entre les comptages.
<p>Pourcentage anormalement élevé de cellules mortes ou de cellules vivantes comptées comme des cellules mortes</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Vérifier que les cellules sont correctement mises au point de telle sorte que les cellules vivantes aient un centre brillant et que les cellules mortes soient entièrement sombres (voir page 59). Si les cellules ne sont pas correctement mises au point et qu'elles semblent sombres à l'écran, le Countess™ II FL les comptera comme des cellules mortes. • Si les cellules sont correctement mises au point, ont un centre brillant et sont comptées comme mortes, confirmer qu'elles se trouvent bien dans la bonne plage de taille des cellules et essayer d'ajuster les réglages. • La viabilité des cellules exposées au bleu de trypan pendant une longue période peut être affectée. Par conséquent, il convient de préparer la lame et d'effectuer le comptage à nouveau à chaque fois pour obtenir les meilleurs résultats. • Borner les débris à l'aide des curseurs de taille, de luminosité et de circularité.

Problème	Solutions possibles
Clé USB non reconnue par l'instrument	<ul style="list-style-type: none"> • La clé USB doit être au format FAT32 pour être reconnue par l'instrument. Si ça n'est pas le cas, reformater la clé au format FAT32 (page 52). • Essayer une autre clé USB correctement formatée.
Impossible de mettre à jour le logiciel Countess™	<ul style="list-style-type: none"> • Vérifier que la clé USB est au format FAT32. Si ça n'est pas le cas, reformater la clé au format FAT32 avant de transférer les fichiers de mise à jour du logiciel sur la clé USB. • Le fichier de mise à jour doit être enregistré au niveau supérieur de la clé USB, et non dans un dossier ou un sous-dossier. • Impossible de renommer le fichier. • Le fichier ne peut pas être zippé ou compressé pendant la distribution. Il doit être intact pendant le transfert et avoir une extension .lft. • Le cas échéant, vérifier que le port USB fonctionne en faisant le test avec une souris USB.

Annexe B : Spécifications du produit

Spécifications techniques

Caractéristiques physiques	Type d'instrument :	Compteur de cellules de laboratoire et plate-forme d'analyse de cellules en suspension
	Dimensions de l'instrument :	22,86 cm (9 po) (l) × 14,97 cm (5 ½ po) (P) × 22,86 cm (9 po) (H)
	Poids :	3,62 kg (8 lb)
	Puissance de fonctionnement :	100–240 V CA, 0,58 A MAX
	Fréquence :	50/60 Hz
	Entrée électrique :	12 V CC, 2 A
	Site d'installation : environnementale A	Usage en intérieur uniquement, catégorie (c.-à-d. non-résidentiel ou industriel léger) ; Degré de pollution 2.
	Température de fonctionnement :	4–40 °C (39–104 °F)
	Humidité de fonctionnement :	< 80 % (sans condensation)
	Spécifications techniques	Temps de traitement :
Plage de concentration de l'échantillon :		1×10^4 – 1×10^7 cellules/ml
Plage de diamètre de la particule/cellule :		4–60 µm (particules) ; 7–60 µm (cellules)
Volume d'échantillon requis :		10 µl
Micro-programme :		Logiciel de la plate-forme de comptage de cellules automatisée Countess™
Clé USB Drive :		4 gigaoctets
Optiques	Optiques :	3 canaux (champ lumineux et 2 emplacements pour cubes de lumière LED EVOS™)
	Caméra :	5 méga pixels, grossissement optique 2,5 ×
Lame d'analyse	Matériau :	Poly(méthacrylate de méthyle) (PMMA)
	Dimensions :	25 mm (l) × 75 mm (P) × 1,7 mm (H)
	Volume de la chambre :	10 µl

Cubes de lumière EVOS™

Éclairage LED

Le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL utilise une source lumineuse LED d'intensité réglable fournie par le cube de lumière LED exclusif interchangeable par l'utilisateur (voir ci-dessous). Comme la source de lumière LED est aussi proche que possible de l'objectif, le nombre d'éléments optiques dans le canal est réduit au minimum. L'éclairage à haute intensité sur un canal court augmente l'efficacité de l'excitation fluorophore, fournissant ainsi une meilleure détection des signaux fluorescents faibles.

Cubes de lumières EVOS™

Chaque cube de lumière EVOS™ remplaçable par l'utilisateur, configuré automatiquement contient une LED, des optiques collimateurs et des filtres. Outre le canal à champ lumineux dédié au comptage de cellules et aux analyses de viabilité cellulaire à l'aide de bleu de trypan, le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL peut accueillir deux cubes de lumière fluorescente pour les applications de recherche à fluorescence multiple.



Le tableau suivant répertorie certains des fluorescents courants ainsi que les cubes de lumière spécifiques EVOS™ disponibles chez Thermo Fisher Scientific. Pour obtenir la liste complète, consulter www.thermofisher.com/evoslightcubes ou contacter le support technique (page 82). Pour les consignes de remplacement des cubes de lumière LED, voir page 55.

Cube de lumière	Colorant
DAPI	DAPI, Hoechst™, BFP
TagBFP	TagBFP
CFP	ECFP, Lucifer Yellow, Evans Blue
GFP	GFP, Alexa Fluor™ 488, SYBR™ Green, FITC
YFP	EYFP, acridine orange + DNA
RFP	RFP, Alexa Fluor™ 546, Alexa Fluor™ 555, Alexa Fluor™ 568, Cy®3, MitoTracker™ Orange, Rhodamine Red, DsRed
Texas Red	Texas Red™, Alexa Fluor™ 568, Alexa Fluor™ 594, MitoTracker™ Red, mCherry, Cy™3.5
Cy5	Cy®5, Alexa Fluor™ 647, Alexa Fluor™ 660, DRAQ5™
Cy5.5	Cy®5,5, Alexa Fluor™ 660, Alexa Fluor™ 680, DRAQ5™
Cy7	Cy®7, IRDye 800CW



Remarque : les cubes de lumière EVOS™ sont disponibles uniquement pour le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL. Le compteur automatisé de cellules Countess™ II utilise exclusivement l'éclairage à champ lumineux et n'est pas compatible avec les cubes de lumière EVOS™.

Annexe C : Informations de commande

Compteur automatisé de cellules Countess™ II FL et ses accessoires

L'instrument Countess™ II FL suivant et ses accessoires sont disponibles auprès de Thermo Fisher Scientific. Pour plus d'informations, consulter www.thermofisher.com ou contacter le support technique (page 82).

Produit	Quantité	Réf. n°
Compteur automatisé de cellules Countess™ II FL	1 chacun	AMQAF1000
Cordon d'alimentation avec 4 cordons adaptateurs Countess™ II	1 chacun	AMEP4716
Clé USB Countess™ II	1 chacun	A25751
Outil de retrait du cube de lumière Countess™ II FL	1 chacun	AMEP4747
Porte-lames jetable Countess™ II FL	1 chacun	AMEP4745
Porte-lames réutilisable Countess™ II FL	1 chacun	AMEP4746

Produits accessoires

Les produits suivants peuvent être utilisés avec le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL et peuvent être commandés séparément auprès de Thermo Fisher Scientific. Pour plus d'informations, consulter www.thermofisher.com ou contacter le support technique (page 82).

Produit	Quantité	Réf. n°
Lames de comptage de cellules à chambres Countess™, 50 lames (100 comptages)	1 boîte*	C10228
Lames de comptage de cellules à chambres Countess™, 500 lames (1 000 comptages)	10 boîtes*	C10312
Lames de comptage de cellules à chambres Countess™, 1 250 lames (2 500 comptages)	25 boîtes*	C10313
Lames de comptage de cellules à chambres Countess™, 2 500 lames (5 000 comptages)	50 boîtes*	C10314
Lames de comptage de cellules à chambres Countess™, 5 000 lames (10 000 comptages)	100 boîtes*	C10315
Lame réutilisable Countess™ II FL	1 chacun	A25750
Billes de test Countess™ (1 × 10 ⁶ billes/ml)	1 ml	C10284
Colorant bleu de trypan (0,4 %)	2 × 1 ml	T10282

* Chaque boîte de lames de comptage de cellules à chambres Countess™ contient 50 lames et 2 flacons de 1 ml de bleu de trypan (0,4 %) suffisant pour 100 comptages.

Annexe D : Format de fichier CSV

Explication relative au format de fichier CSV

Présentation

Un fichier à valeurs séparées par des virgules (CSV) stocke des données tabulaires (chiffres et texte) sous forme de texte clair. Texte clair signifie que le fichier est constitué d'une séquence de caractères sans aucune donnée devant être interprétée comme un nombre binaire. Un fichier CSV peut être ouvert à l'aide de n'importe quel logiciel ou tableur tiers. Le tableau ci-dessous décrit les catégories de données du Countess™ II sauvegardées dans un fichier CSV et ouvertes à l'aide d'un tableur.

Catégorie	Colonne	Nom	Description
Généralités	A	Number (Numéro)	Numéro séquentiel d'exécution de l'échantillon
	B	File Name (Nom du fichier)	Name du fichier
	C	Date & Time (Date et heure)	Date et heure de l'exécution de l'échantillon
	D	Mode (Mode)	Champ lumineux BF ou fluorescence FL
Bleu de trypan/champ lumineux	E	Total Concentration (Concentration totale)	Concentration de l'échantillon complet
	F	Total cells counted (Total de cellules comptées)	Nombre total de cellules comptées dans l'échantillon
	G	Live concentration (Concentration vivante)	Concentration de la proportion « vivante » de l'échantillon uniquement
	H	Live cells counted (Cellules comptées vivantes)	Nombre total de cellules « vivantes » comptées
	I	Dead concentration (Concentration morte)	Concentration de la proportion « morte » de l'échantillon uniquement
	J	Dead cells counted (cellules comptées mortes)	Nombre total de cellules « mortes » comptées
	K	Viability (%) (Viabilité (%))	Pourcentage de viabilité de l'échantillon selon la coloration au bleu de trypan
	L	Average size (um) (Taille moyenne (um))	Taille moyenne des cellules en microns

Fluorescence (Fluorescence)	M	Cube 1 name (Nom du cube 1)	Cube de lumière EVOS nommé en première position (haut)
	N	Cube 1 concentration (Concentration cube 1)	Concentration de cellules présentant une fluorescence dans le cube en première position
	O	Cube 1 (%) (Cube 1 (%))	Pourcentage des cellules totales en champ lumineux présentant une fluorescence dans le cube en première position
	P	Cube 1 cells counted (Cellules comptées cube 1)	Nombre total de cellules comptées dans le cube en première position
	Q	Cube 2 name (Nom du cube 2)	Cube de lumière EVOS nommé en deuxième position (bas)
	R	Cube 2 concentration (Concentration cube 2)	Concentration de cellules présentant une fluorescence dans le cube en deuxième position
	S	Cube 2 (%) (Cube 2 (%))	Pourcentage des cellules totales en champ lumineux présentant une fluorescence dans le cube en deuxième position
	T	Cube 2 cells counted (Cellules comptées cube 2)	Nombre total de cellules comptées dans le cube en deuxième position
	U	Cube 1+2 concentration (Concentration cubes 1 + 2)	Concentration de cellules présentant une fluorescence dans les première et deuxième positions de cubes combinées
	V	Cube 1+2 (%) (Cubes 1 + 2 (%))	Pourcentage des cellules totales en champ lumineux présentant une fluorescence dans le cube en première et deuxième positions combinées
	W	Cube 1+2 cells counted (Cellules comptées cubes 1 + 2)	Nombre total de cellules comptées dans les première et deuxième positions de cubes combinées

Catégorie	Colonne	Nom	Description
Détails généraux	X	Focus value (Valeur de mise au point)	Numéro de position de mise au point
	Y	BF Light intensity (Intensité lumineuse du BF)	Valeur d'intensité lumineuse du champ lumineux de 0-100 %
Paramètres de comptage bleu de trypan/champ lumineux	Z	Live Size min (Taille mini vivante)	Taille minimale des cellules « vivantes » en microns
	AA	Live Size max (Taille maxi vivante)	Taille maximale des cellules « vivantes » en microns
	AB	Live Brightness min (Luminosité mini vivante)	Valeur de luminosité minimale du curseur d'ajustement des cellules « vivantes »
	AC	Live Brightness max (Luminosité maxi vivante)	Valeur de luminosité maximale du curseur d'ajustement des cellules « vivantes »
	AD	Live Circularity (Circularité vivante)	Valeur de circularité du curseur d'ajustement des cellules « vivantes »
	AE	Dead Size min (Taille mini morte)	Taille minimale des cellules « mortes » en microns
	AF	Dead Size max (Taille maxi morte)	Taille maximale des cellules « mortes » en microns
	AG	Dead Bright min (Luminosité mini morte)	Valeur de luminosité minimale du curseur d'ajustement des cellules « mortes »
	AH	Dead Bright max (Luminosité maxi morte)	Valeur de luminosité maximale du curseur d'ajustement des cellules « mortes »
	AI	Dead Circ (Cir. morte)	Valeur de circularité du curseur d'ajustement des cellules « mortes »

Paramètres de comptage par fluorescence	AJ	Cube 1 Light intensity (Intensité de lumière cube 1)	Valeur de l'intensité de lumière du premier cube de lumière (haut) de 0-100 %
	AK	Cube 2 Light intensity (Intensité de lumière cube 2)	Valeur de l'intensité de lumière du deuxième cube de lumière (bas) de 0-100 %
	AL	BF Size min (Taille mini BF)	Taille minimale des cellules à « champ lumineux » en microns
	AM	BF Size max (Taille maxi BF)	Taille maximale des cellules à « champ lumineux » en microns
	AN	BF Brightness min (Luminosité mini BF)	Valeur de luminosité minimale du curseur d'ajustement du « champ lumineux »
	AO	BF Brightness max (Luminosité maxi BF)	Valeur de luminosité maximale du curseur d'ajustement du « champ clair »
	AP	BF Circularity (Circularité BF)	Valeur de circularité du curseur d'ajustement du « champ lumineux »
	AQ	Cube 1 Brightness min (Luminosité mini Cube 1)	Valeur de luminosité minimale du curseur d'ajustement du premier cube de lumière (haut)
	AR	Cube 1 Brightness max (Luminosité maxi Cube 1)	Valeur de luminosité maximale du curseur d'ajustement du premier cube de lumière (haut)
	AS	Cube 2 Brightness min (Luminosité mini Cube 2)	Valeur de luminosité minimale du curseur d'ajustement du deuxième cube de lumière (bas)
	AT	Cube 2 Brightness max (Luminosité maxi Cube 2)	Valeur de luminosité maximale du curseur d'ajustement du deuxième cube de lumière (bas)

Annexe E : Sécurité

Conventions de sécurité utilisées dans ce document

Termes d’alerte à la sécurité Quatre termes d’alerte à la sécurité apparaissent dans ce document. Ils sont insérés à des endroits spécifiques pour attirer l’attention du lecteur sur des risques importants. Chaque mot d’alerte — **IMPORTANT, ATTENTION, AVERTISSEMENT, DANGER** — implique un degré de mise en garde ou une action spécifique :



IMPORTANT ! Fournit des informations nécessaires au bon fonctionnement de l’instrument, à une installation précise ou à la manipulation d’un produit chimique en toute sécurité.



ATTENTION ! – Indique une situation potentiellement dangereuse qui peut provoquer des blessures mineures ou modérées si elle n’est pas évitée. Ce message peut aussi servir de mise en garde contre les pratiques dangereuses.



AVERTISSEMENT ! – Indique une situation potentiellement dangereuse qui pourrait provoquer des blessures mortelles ou sérieuses si elle n’est pas évitée.











DANGER ! – Indique une situation dangereuse imminente qui provoquera des blessures mortelles ou sérieuses si elle n’est pas évitée. Cette mise en garde doit être limitée aux situations les plus extrêmes.

À l’exception du terme **IMPORTANT !**, chaque terme d’alerte à la sécurité présent dans le présent document est accompagné d’un panneau triangulaire contenant un symbole de danger. Ces symboles sont identiques aux icônes apposées sur les instruments (voir « **Symboles de sécurité** »).

Symboles sur les instruments








Symboles électriques

Le tableau suivant décrit les symboles électriques susceptibles d'apparaître.

Symbole	Description
	Indique la position ON (MARCHE) de l'interrupteur d'alimentation principale.
	Indique la position OFF (ARRÊT) de l'interrupteur d'alimentation principale.
	Commutateur permettant de mettre l'instrument en mode Veille . Lorsqu'il est dans ce mode, l'instrument présente un risque d'électrocution.
	Indique la position ON/OFF (MARCHE/ARRÊT) de l'interrupteur d'alimentation principale à bouton poussoir.
	Borne pouvant être connectée à la mise à la terre d'un autre instrument. Il ne s'agit pas d'une borne de mise à la terre protégée.
	Borne de mise à la terre de protection devant être reliée à la terre avant d'effectuer tout autre raccordement électrique à l'instrument.
	Borne pouvant recevoir ou envoyer une tension ou un courant de type alternatif.
	Borne pouvant recevoir ou envoyer une tension ou un courant direct ou alternatif.


Symboles de sécurité

Le tableau suivant décrit les symboles de sécurité susceptibles d'apparaître. Chacun de ces symboles de sécurité peut être apposé seul ou accompagné d'un texte expliquant le risque correspondant (voir **Safety labels on instruments** (Étiquettes de sécurité sur les instruments)). Ces symboles de sécurité peuvent également apparaître à côté des mises en garde DANGER, AVERTISSEMENT et ATTENTION incluses dans le texte des documents associés aux produits, le présent guide compris.

Symbole	Description
	Avertit l'utilisateur de la nécessité de consulter le manuel pour obtenir davantage d'informations et de procéder avec les précautions qui s'imposent.
	Indique un risque d'électrocution et la nécessité de procéder avec les précautions qui s'imposent.
	Indique la présence d'une surface chaude ou un risque de température élevée, ainsi que la nécessité de procéder avec les précautions qui s'imposent.
	Indique la présence d'un laser à l'intérieur de l'instrument et la nécessité de procéder avec les précautions qui s'imposent.
	Indique la présence de pièces en mouvement et la nécessité de procéder avec les précautions qui s'imposent.
	Indique la présence d'un risque biologique et la nécessité de procéder avec les précautions qui s'imposent.
	Indique la présence d'une lumière ultraviolette à l'intérieur de l'instrument et la nécessité de procéder avec les précautions qui s'imposent.





Symboles environnementaux

Le symbole suivant s'applique à tous les produits électriques et électroniques commercialisés par Thermo Fisher Scientific sur le marché européen après le 13 août 2005.

Symbole	Description
	<p>Ne pas éliminer ce produit avec les déchets usuels non soumis au tri sélectif. Se conformer à la réglementation locale relative à l'élimination des déchets usuels pour réduire l'impact environnemental des déchets des équipements électriques et électroniques (DEEE).</p> <p>Utilisateurs de l'Union européenne : Appeler le représentant du Service clientèle pour connaître les procédures d'enlèvement et de recyclage des équipements. Consulter www.thermofisher.com pour obtenir la liste des bureaux du Service clientèle dans l'Union européenne.</p>

Étiquettes de sécurité sur les instruments

Les mentions ATTENTION, AVERTISSEMENT et DANGER peuvent apparaître sur les instruments Thermo Fisher Scientific accompagnées des symboles de sécurité décrits dans la section précédente.

Symboles de danger	English	Français
	CAUTION! Hazardous chemicals. Read the Safety Data Sheets (SDSs) before handling.	ATTENTION ! Produits chimiques dangereux. Lire les fiches techniques de sûreté de matériels avant toute manipulation de produits.
	CAUTION! Hazardous waste. Refer to SDS(s) and local regulations for handling and disposal.	ATTENTION ! Déchets dangereux. Lire les fiches techniques de sûreté de matériels et la régulation locale associées à la manipulation et l'élimination des déchets.
	DANGER! High voltage.	DANGER ! Haute tension.
	WARNING! To reduce the chance of electrical shock, do not remove covers that require tool access. No user-serviceable parts are inside. Refer servicing to Thermo Fisher Scientific qualified service personnel.	AVERTISSEMENT ! Pour éviter les risques d'électrocution, ne pas retirer les capots dont l'ouverture nécessite l'utilisation d'outils. L'instrument ne contient aucune pièce réparable par l'utilisateur. Toute intervention doit être effectuée par le personnel de service qualifié venant de Thermo Fisher Scientific.
	DANGER! Class 3B visible and/or invisible laser radiation present when open. Avoid exposure to beam.	DANGER ! Rayonnement visible ou invisible d'un faisceau laser de Classe 3B en cas d'ouverture. Évitez toute exposition au faisceau.
	CAUTION! Moving parts. Crush/pinch hazard.	ATTENTION ! Pièces en mouvement, risque de pincement et/ou d'écrasement.

Sécurité générale de l'instrument



AVERTISSEMENT ! RISQUE DE BLESSURES CORPORELLES. Utiliser ce produit uniquement en respectant les instructions fournies dans ce document. Toute utilisation non conforme avec les indications fournies par Thermo Fisher Scientific peut provoquer des blessures corporelles ou endommager l'instrument.

Utilisation de l'instrument

Chaque utilisateur de l'instrument doit :

- Être informé des pratiques de sécurité générales des laboratoires et spécifiques de l'instrument.
- Lire et comprendre toutes les fiches de données de sécurité (FDS) concernées. Voir « **Documentation et support** » (page 82).

Consignes de sécurité

- Ne pas installer l'instrument dans un environnement très humide comme une serre ou un incubateur pour éviter tout risque de choc électrique. Si de l'eau ou un autre matériel pénètre à l'intérieur de l'instrument, l'adaptateur ou l'entrée d'alimentation, débrancher le cordon d'alimentation et contacter un technicien. Pour l'environnement d'exploitation, se référer à « **L'instrument** » (page 10).
- Ne pas appuyer sur la fiche principale ou le cordon d'alimentation avec les mains mouillées.
- S'assurer que la tension d'entrée de l'alimentation corresponde toujours à la tension disponible sur le lieu d'utilisation.
- Ne pas installer l'instrument sur un plan incliné ou dans un endroit sujet aux vibrations car cela pourrait faire dysfonctionner ou endommager l'appareil.
- Ne jamais introduire d'objets dans les orifices d'aération de l'instrument, car cela pourrait provoquer une électrocution, des blessures corporelles ou endommager l'équipement.
- Brancher fermement le cordon d'alimentation dans la fiche murale et dans l'instrument.
- Pour éviter tout risque potentiel de choc électrique, vérifier que le cordon d'alimentation est correctement relié à la terre.
- Veiller à placer l'instrument de manière à pouvoir le débrancher facilement.
- Mettre l'instrument hors tension avant de débrancher le cordon d'alimentation et/ou de déplacer l'instrument.
- Si l'instrument est cassé ou a fait une chute, débrancher le cordon d'alimentation et contacter un technicien. Ne pas démonter l'instrument.
- Utiliser uniquement les accessoires autorisés (adaptateur, cordon d'alimentation et clé USB).
- Si l'instrument émet de la fumée, débrancher le cordon d'alimentation de la fiche murale et contacter un technicien.

**Nettoyer ou
décontaminer
l'instrument**



ATTENTION ! Le recours à des méthodes de nettoyage et de décontamination autres que celles recommandées par le fabricant peut compromettre l'innocuité ou la qualité de l'instrument.

**Retrait des
couvercles ou
pièces de
l'instrument**



ATTENTION ! RISQUE DE BLESSURES CORPORELLES. L'instrument doit être entretenu uniquement par du personnel qualifié ou par le fournisseur indiqué dans le guide de l'utilisateur.

Sécurité chimique

Mise en garde sur les dangers chimiques



AVERTISSEMENT ! DANGER CHIMIQUE. Avant de manipuler des produits chimiques, se référer à la fiche de données de sécurité (FDS) fournie par le fabricant et respecter toutes les précautions d'usage.



AVERTISSEMENT ! DANGER D'ENTREPOSAGE CHIMIQUE. En raison des risques de bris ou d'éclatement du verre, ne jamais recueillir ou entreposer les déchets dans un récipient en verre. Les bouteilles de déchets ou de réactifs composées de verre peuvent se fendre et fuir. Chaque bouteille de déchets doit être sécurisée dans un conteneur de protection en polyéthylène à faible densité dont le couvercle doit être fixé et les poignées verrouillées en position verticale. Porter des gants, des vêtements et des protections oculaires appropriés lors de la manipulation de bouteilles de déchets et de réactifs.

Consignes de sécurité générales

Pour limiter les dangers chimiques :

- Lire et comprendre les fiches de données de sécurité (FDS) fournies par le fabricant avant de stocker, manipuler ou utiliser les matériaux dangereux ou les produits chimiques.
- Limiter les contacts avec les produits chimiques. Porter des équipements de protection appropriés lors de la manipulation des produits chimiques (par exemple : lunettes de sûreté, gants ou vêtements de protection). Pour obtenir d'autres consignes de sécurité, consulter la FDS.
- Limiter l'inhalation des produits chimiques. Ne pas laisser les récipients de produits chimiques ouverts. Ils ne doivent être utilisés qu'avec une ventilation adéquate (par exemple, sorbonne). Pour obtenir d'autres consignes de sécurité, consulter la FDS.
- Vérifier régulièrement l'absence de fuite ou d'écoulement des produits chimiques. En cas de fuite ou d'écoulement d'un produit, respecter les directives de nettoyage du fabricant recommandées sur la FDS.
- Respecter toutes les réglementations locales, nationales et communautaires quant à l'entreposage, à la manipulation et à l'élimination des produits chimiques.

Sécurité des déchets chimiques

Déchets chimiques dangereux



ATTENTION ! DÉCHETS DANGEREUX. Consulter les fiches de données de sécurité (FDS) et les réglementations locales en matière de manipulation et d'élimination des déchets.

Consignes de sécurité des déchets chimiques

Pour limiter les dangers chimiques :

- Lire et comprendre les fiches de données de sécurité (FDS) du fabricant des produits chimiques présents dans le récipient d'entreposage des déchets avant d'entreposer, de manipuler ou d'éliminer les déchets chimiques.
- Se procurer des récipients à déchets primaire et secondaire. (Le récipient primaire contient les déchets immédiats, le récipient secondaire contient les fuites et les écoulements du récipient primaire. Les deux récipients doivent être compatibles avec les matériaux jetés et conformes aux exigences locales, nationales et communautaires en matière de confinement des récipients.)
- Limiter les contacts avec les produits chimiques. Porter des équipements de protection appropriés lors de la manipulation des produits chimiques (par exemple : lunettes de sûreté, gants ou vêtements de protection). Pour obtenir d'autres consignes de sécurité, consulter la FDS.
- Limiter l'inhalation des produits chimiques. Ne pas laisser les récipients de produits chimiques ouverts. Ils ne doivent être utilisés qu'avec une ventilation adéquate (par exemple, sorbonne). Pour obtenir d'autres consignes de sécurité, consulter la FDS.
- Manipuler les déchets chimiques dans une sorbonne.
- Une fois le récipient à déchets vidé, il doit être refermé hermétiquement avec le couvercle fourni.
- Éliminer le contenu du bac et de la bouteille à déchets conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux réglementations environnementales et sanitaires locales, nationales et communautaires en vigueur.

Élimination des déchets

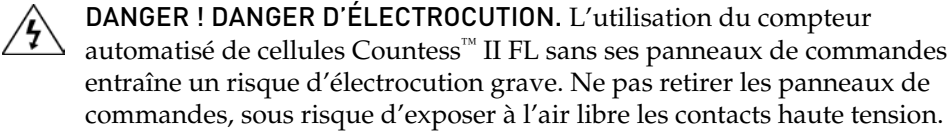
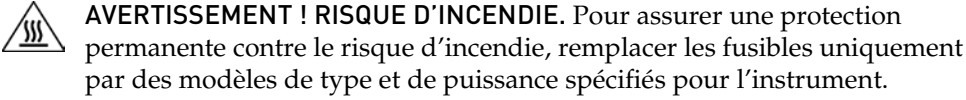
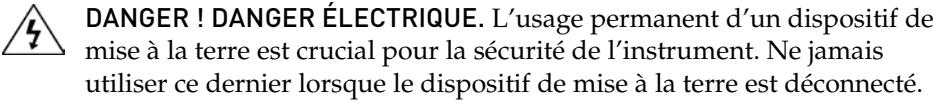
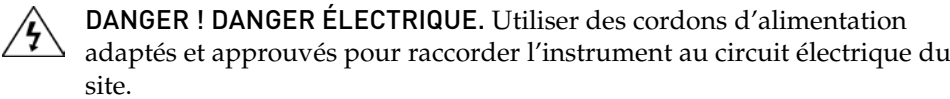
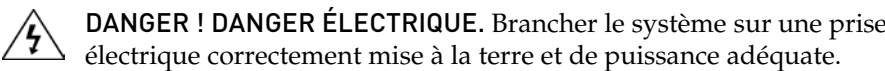
Si l'instrument produit des déchets potentiellement dangereux lors de son fonctionnement, il convient de :

- Caractériser (par une analyse si nécessaire) les déchets générés par les applications, les réactifs et les substrats particuliers utilisés dans le laboratoire.
- Veiller à protéger la santé et la sécurité de tous les membres du personnel du laboratoire.
- Vérifier que les déchets de l'instrument sont convenablement stockés, transférés, transportés et éliminés en respectant toutes les réglementations locales, nationales et/ou communautaires en vigueur.



IMPORTANT ! Les matériaux représentant un danger biologique ou radioactif exigent parfois une manipulation spéciale, et des limitations peuvent s'appliquer à leur élimination.

Sécurité électrique

	
Fusibles	
Alimentation	
	
	
Catégorie de surtension	Le compteur automatisé de cellules Countess™ II FL est répertorié dans la catégorie de surtension (classe d'installation) II et désigné en tant que dispositif portable.

Sécurité en matière de risques biologiques



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE. Les échantillons biologiques tels que les tissus, les fluides corporels et le sang humain ou animal présentent un risque de transmission de maladies infectieuses. Respecter toutes les réglementations locales, nationales et/ou communautaires. Porter des lunettes de protection, des vêtements et des gants adaptés. Lire et suivre les instructions contenues dans ces publications.

ATTENTION ! RISQUE BIOLOGIQUE. Les échantillons biologiques tels que les tissus, les fluides corporels et le sang des humains et d'autres animaux ont la possibilité de transmettre des maladies infectieuses. Suivre tous les règlements municipaux, provinciaux et/ou nationaux en vigueur. Porter des lunettes de protection appropriées, des vêtements et des gants.

Aux États-Unis :

- Instructions de l'U.S. Department of Health and Human Services (ministère de la Santé et des Services sociaux des États-Unis), publiées dans le document *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Biosécurité dans les laboratoires microbiologiques et biomédicaux)* (réf. 017-040-00547-4; www.cdc.gov/OD/ohs/biosfty/bmbl4/bmbl4toc.htm)
- Occupational Safety and Health Standards, Bloodborne Pathogens (Normes sur la santé et la sécurité au travail, Pathogènes transmissibles par le sang) (29 CFR§1910.1030; www.access.gpo.gov/nara/cfr/waisidx_01/29cfr1910a_01.html)
- Protocoles du programme de biosécurité de l'entreprise/institution pour la manipulation et l'utilisation des matières potentiellement infectieuses.
- Des informations complémentaires relatives aux consignes de sécurité sur les risques biologiques sont disponibles à l'adresse : www.cdc.gov

Dans l'Union européenne :

- Consulter les réglementations et la législation locales relatives à la prévention des risques biologiques et à la sécurité biologique, ainsi que les meilleures pratiques publiées dans la troisième édition du document Laboratory Biosafety Manual (Manuel de sécurité biologique en laboratoire) de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/

Normes de sécurité et de compatibilité électromagnétique (CEM)

Cette section fournit des informations sur les points suivants :

- Normes de sécurité aux États-Unis et au Canada.
- Normes de sécurité et CEM dans l'Union européenne.
- Normes CEM en Australie.

Normes de sécurité aux États-Unis et au Canada



La **marque CSA C/US** signifie que le produit est conforme aux normes américaines et canadiennes applicables, y compris celles de CSA, CSA America, ANSI, ASME, ASSE, ASTM, NSF et UL.

Normes de sécurité et CEM dans l'Union européenne



La **marque CE** est un symbole indiquant que le produit est conforme à toutes les dispositions applicables de la Communauté européenne pour lesquelles ce marquage est obligatoire. L'utilisation de l'instrument est soumise aux conditions décrites dans ce manuel.

Si l'instrument est utilisé d'une manière non spécifiée par Thermo Fisher Scientific, la protection offerte par l'appareil pourrait s'en trouver détériorée.

Normes CEM en Australie



La **marque C-Tick** indique la conformité aux normes australiennes et néo-zélandaises en matière de compatibilité électromagnétique.

Documentation et support

Assistance

Support technique

Pour les détails des services et de support les plus actuels pour toutes les localisations, consulter www.thermofisher.com.

Notre site Web permet d'effectuer les actions suivantes :

- Obtenir les numéros de téléphone et de télécopie du support technique et des sites commerciaux partout dans le monde.
- Rechercher un sujet dans le forum aux questions (FAQ).
- Poser une question directement à l'assistance technique (thermofisher.com/support).
- Rechercher des documents utilisateur, des FDS, des séquences et des cartes vectorielles, des notes d'application, des formules, des manuels, des certificats d'analyse, des citations et d'autres documents de support sur les produits.
- Obtenir des informations sur les formations proposées à nos clients.
- Télécharger des mises à jour et correctifs de logiciels.

Fiches de données de sécurité (FDS)

Les fiches de données de sécurité (FDS) sont disponibles sur le site internet à l'adresse suivante : thermofisher.com/support.



IMPORTANT ! Pour obtenir les FDS des produits chimiques non distribués par Thermo Fisher Scientific, contacter le fabricant.

Garantie limitée du produit

Life Technologies Corporation et/ou ses filiales garantissent leurs produits selon les termes et conditions générales de ventes disponibles sur le site www.thermofisher.com/us/en/home/global/terms-and-conditions.html. Si vous avez des questions, vous pouvez prendre contact avec Life Technologies à l'adresse suivante : www.thermofisher.com/support.

Pour obtenir de l'aide, consulter [thermofisher.com/support](https://www.thermofisher.com/support)

16 Février 2018

ThermoFisher
SCIENTIFIC