



Medical-Biological
Research & Technologies

RTS-1/RTS-1C

Enregistreur de croissance cellulaire en temps réel



Mode d'emploi
Certificat

pour version
V.1AW

Table des matières

1. Consignes de sécurité
2. Informations générales
3. Démarrage
4. Calibrage
5. Utilisation
6. Méthodes approuvées pour la culture de micro-organismes
7. Recommandations pour la création de paramètres personnels pour la culture de micro-organismes. Points à considérer:
 - 7.1. Particularités de la distribution de température (psychrophiles, mésophiles, thermophiles)
 - 7.2. Croissance cellulaire en fonction de l'intensité rotative
 - 7.3. Aération et types de tubes recommandés
 - 7.4. Croissance cellulaire en fonction de la fréquence de mesure (aérobies, anaérobies)
 - 7.4. Dimension des particules et coefficients d'étalonnage 600 nm/850 nm
 - 7.5. Plage linéaire de mesure de DO en fonction du volume moyen
8. Caractéristiques techniques
9. Entretien
10. Étalonnage du dispositif pour l'entretien
11. Garantie et réclamations
12. Déclaration de conformité

1. Consignes de sécurité

Le symbole suivant signifie:



Attention!

Assurez-vous d'avoir entièrement lu et compris ce Mode d'emploi avant d'utiliser l'appareil. Faites particulièrement attention aux sections signalées par ce symbole.

SÉCURITÉ GÉNÉRALE

- Limitez-vous à l'usage décrit dans le mode d'emploi fourni.
- L'appareil ne doit pas être utilisé après une chute ou s'il a été endommagé.
- Après le transport ou le stockage, conservez l'appareil à température ambiante pendant 2 heures avant de le brancher sur le circuit électrique.
- Employez uniquement les méthodes de nettoyage et de décontamination recommandées par le fabricant.
- Ne modifiez pas la conception de l'appareil.

SÉCURITÉ ÉLECTRIQUE

- Ne branchez pas l'appareil sur une prise non reliée à la terre; n'utilisez pas de rallonge non reliée à la terre.
- Connectez seulement à un bloc d'alimentation dont la tension correspond à celle indiquée sur l'étiquette du numéro de série.
- Utilisez uniquement le bloc d'alimentation externe fourni avec ce produit.
- Vérifiez que le bloc d'alimentation externe et l'interrupteur soient aisément accessibles pendant l'utilisation.
- Déconnectez l'appareil du circuit électrique avant de le déplacer.
- Mettez l'appareil hors tension en appuyant sur l'interrupteur et en déconnectant le bloc d'alimentation externe de la prise.
- Si du liquide pénètre dans l'appareil, déconnectez-le du bloc d'alimentation externe et faites-le vérifier par un technicien en réparation/entretien.
- N'utilisez pas l'appareil dans des locaux où de la condensation peut se former. Les conditions d'utilisation de l'appareil sont définies dans la section Caractéristiques techniques.

PENDANT L'UTILISATION

- N'utilisez pas l'appareil dans des milieux où se trouvent des mélanges chimiques agressifs ou explosifs. Veuillez contacter le fabricant pour une utilisation éventuelle de l'appareil dans des atmosphères particulières.
- N'utilisez pas l'appareil s'il est défectueux ou s'il n'a pas été installé correctement.
- N'utilisez pas l'appareil en dehors des salles de laboratoire.
- Ne vérifiez pas la température au toucher. Utilisez un thermomètre.
- Nettoyez et décontaminez toujours le rotor après utilisation.

SÉCURITÉ BIOLOGIQUE

- Il incombe à l'utilisateur d'effectuer la décontamination nécessaire si des matières dangereuses ont été renversées sur l'appareil (ou ont pénétré à l'intérieur).

2. Informations générales

L'enregistreur de croissance cellulaire en temps réel est un dispositif qui peut être utilisé comme incubateur avec mesure de densité optique en temps réel. Le contrôle de température permet d'utiliser RTS-1/RTS-1C comme incubateur pour, par exemple, cultiver des cellules. Grâce à une technologie de mélange innovante (rotation inversée de l'échantillon sur son propre axe), il est possible de mesurer la DO sans l'ingérence de la sonde. Le logiciel élaboré pour enregistrer, afficher et analyser les données permet de travailler en temps réel.

le modèle RTS-1C est équipé d'un appareil de refroidissement qui permet de refroidir les échantillons jusqu'à + 4°C et d'établir un profil de la température par l'intermédiaire du logiciel.

L'enregistreur de croissance cellulaire en temps réel peut s'utiliser en :

- Biologie moléculaire
- Biologie cellulaire
- Biotechnologie
- Biochimie
- Chimie
- Microbiologie

Caractéristiques

- Rotation inversée de l'échantillon sur son propre axe pour une technologie de mélange innovante;
- Grâce à sa technologie innovante, il est possible de mesurer la densité optique et la diffusion de la lumière de l'échantillon en temps réel et sans l'ingérence d'une sonde, ce qui préserve ainsi la stérilité du processus.
- La modification des paramètres, tels que la température, le nombre de rotations par minute et la durée de rotation dans une direction, et la possibilité de créer des algorithmes expérimentaux (y compris le profil des températures et de l'intensité du mélange, le contrôle de la densité optique, etc.) permettent d'accomplir la séquence difficile des algorithmes du processus de fermentation et d'obtenir des résultats cohérents et répétables.

Possibilités du logiciel:

- Surveillance à distance et contrôle du processus de fermentation;
- Enregistrement en temps réel de la cinétique de la croissance cellulaire ou les processus d'agrégation/de désagrégation de la suspension des particules;
- Graphes de l'utilisateur, y compris graphes en 3D;
- Pause;
- Sauvegarde et chargement des données;
- Rapports en format PDF et Excel
- Connexion simultanée pouvant inclure jusqu'à 10 appareils, ce qui permet d'une part de faire des recherches sur l'influence de divers facteurs chimiques et physiques sur le processus de fermentation et, de d'autre part, de rechercher l'interdépendance de ces facteurs lors d'expériences sur la matrice.

3. Démarrage

3.1. Déballage.

Enlevez soigneusement l'emballage et conservez-le pour une éventuelle réexpédition de l'appareil ou pour le stocker.

Examinez soigneusement l'appareil pour vérifier si des dégâts ont été causés pendant le transport. La garantie ne couvre pas les dommages survenus en transit.

3.2. Kit complet. Le kit comprend:

- Enregistreur de croissance cellulaire en temps réel RTS-1, ou Enregistreur de croissance cellulaire en temps réel avec refroidissement RTS-1C..... 1 pièce
- Couvercle 1 pièce
- Bioréacteurs TPP TubeSpin® Bioréacteur 50 ml.....20 pièces
- Câble de données 1 pièce
- Disque dur USB avec fichiers d'installation du logiciel et manuel d'installation 1 pièce
- Alimentation externe..... 1 pièce
- Mode d'emploi, Certificat1 exemplaire

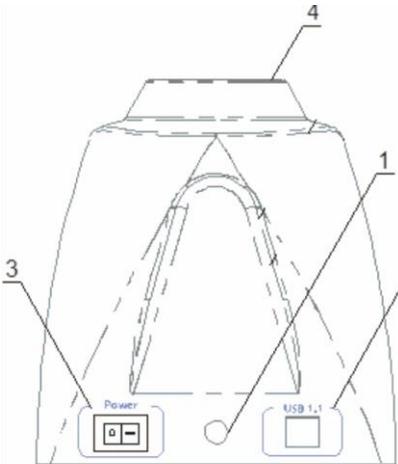


Fig. 1 Panneau arrière

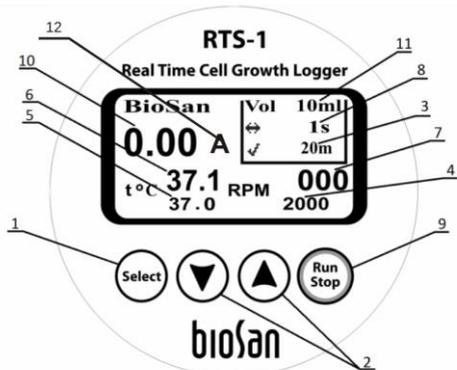


Fig.2 Panneau de configuration

3.3. Installation:

- Placez l'appareil sur une surface de travail horizontale et plane;
- Connectez le bloc d'alimentation externe à la prise de courant (fig. 1/1) située sur le panneau arrière de l'appareil.
- Si l'ordinateur est éteint, allumez-le;
- Installez le logiciel en suivant la procédure décrite dans le manuel d'installation du logiciel.

3.4. Caractéristiques du bioréacteur:

- Tubes de type Falcon. Des tubes pour le Bioréacteur 50 TPP TubeSpin® sont requis pour utiliser le couvercle avec ouvertures;
- Volume de travail 10—ml;
- Forme conique;
- 5 ouvertures (A, B, C, D, E) de taille différente au-dessus du filtre en PTFE stérile et perméable aux gaz du bouchon;
- Les ouvertures peuvent être scellées et de ce fait, l'échange est adapté au besoin;
- L'échange de gaz stérile est garanti par la membrane du filtre de 0,22 µm;
- Même lorsque la densité cellulaire est élevée, l'alimentation en oxygène à travers les ouvertures est suffisante;
- Le tube convient à un rotor de centrifugeuse standard de 50 ml.

4. Calibrage

Le dispositif est pré-calibré en usine pour être utilisé avec un tube Falcon de 50 ml à des températures comprises entre + 15°C et + 70°C (+ 4°C et + 70°C pour le modèle RTS-1C) et sauvegarde les données de calibrage une fois éteint. Pour vérifier la conformité du calibrage, suivez la procédure ci-après:

- Prenez un tube de type Falcon de 50 ml;
- Ajoutez $10 \pm 0,1$ ml d'eau distillée;
- Fermez bien le bouchon du tube Falcon;
- Insérez le tube Falcon dans l'emplacement (fig. 1/4);
- Réglez le paramètre de volume de l'eau distillée sur l'écran (fig. 2/11);
- Appuyez sur la touche **Run Stop** (fig.2/9) (le dispositif commencera le cycle de mesure de DO en accélérant jusqu'à 2 000 tpm);
- Le cycle de mesure devrait durer entre 15—20 secondes; la valeur de DO s'affichera ensuite sur l'écran;
- Si la valeur de DO équivaut à 0 ($DO \pm 0,05$), alors les paramètres du dispositif correspondent aux paramètres de pré-calibrage réglés en usine. Le dispositif peut être utilisé.

5. Utilisation

Recommandations pendant l'utilisation

- Retirez le tube Falcon avant de connecter ou déconnecter l'alimentation externe pendant l'utilisation.
 - Il est recommandé de démarrer l'opération approximativement 15 minutes après avoir allumé le dispositif (durée nécessaire pour la stabilisation en mode de travail).
- 5.1. Connectez le bloc d'alimentation externe au circuit électrique (fig.1/1).
 - 5.2. Mettez l'appareil sous tension en appuyant sur l'interrupteur d'alimentation situé sur le panneau arrière (fig.1/3).
 - 5.3. Insérez le tube Falcon dans l'emplacement (fig.1/4).
 - 5.4. Appuyez sur la touche **Select** (fig. 2/1) pour choisir le paramètre que vous souhaitez modifier (le paramètre actif clignote).
 - 5.5. Utilisez les touches ▲ et ▼ (fig.2/2) pour régler la valeur nécessaire (si vous appuyez sur la touche pendant plus de 2 secondes, le paramètre changera plus rapidement).
 - 5.6. Il est possible de régler la durée entre les mesures de densité optique (fig.2/3), la vitesse de rotation (fig.2/4), la température (fig.2/5), la durée entre les rotations inversées (fig. 2/8), le volume utilisé (fig.2/11). Les valeurs actuelles de la température et de la vitesse s'affichent sur l'écran (fig. 2/6 et fig. 2/7).
-  **Remarque!** Une fois allumé, l'appareil se met à chauffer et se maintient à la même température malgré les autres opérations.
- 5.7. Appuyez sur la touche **Run Stop** (fig. 2/9) pour commencer et arrêter l'opération.
 - 5.8. Appuyez sur la touche **Run Stop** (fig. 2/9) pour commencer et arrêter l'opération.
-  **Attention!** L'arrêt de l'opération n'interrompra pas le processus de chauffage. Pour arrêter le processus de chauffage, il est nécessaire de baisser manuellement la température jusqu'à ce que l'indication "off" apparaisse (fig.2/5).
- 5.9. Une fois l'opération terminée, mettez l'appareil hors tension en appuyant sur l'interrupteur (OFF) (fig. 1/3).
 - 5.10. Déconnectez le bloc d'alimentation externe du circuit électrique (fig. 1/1).

6. Méthodes approuvées pour la culture de micro-organismes

Nous sommes parfaitement conscients que le monde des micro-organismes est infini et que la croissance de chaque souche doit être optimisée. Il ne fait aucun doute que de nouvelles méthodes pour la culture des micro-organismes verront le jour à l'aide des technologies RTS-1. Nous ne manquerons pas d'informer nos clients. Voici les 3 méthodes approuvées qui ont été mises au point par le laboratoire d'application de Biosan:

6.1. **Anaérobie facultatif** *Escherichia Coli*:

2 000 tpm (vitesse de rotation du conteneur),
1 s⁻¹ (Fréquence de rotations inversées, FRI),
37° C (température de l'emplacement),
15 ml (volume de l'échantillon dans le conteneur d'essai),
10 min., mais pas moins (Fréquence de mesure, FM)

6.2. **Aérobie thermophile** *Thermophilus sp.*:

2 000 tpm,
1 s⁻¹ FRS,
70° (température réelle du tube 5°C inférieure),
15 ml
10 min FM
Taux d'évaporation à 70°C = 5 ml/24 h (veuillez modifier le paramètre de Volume en fonction du système de mesure pour un fonctionnement correct)

6.3. **Anaérobie aérotolérant** *L. acidophilus*:

0 tpm,
0 s⁻¹ FRS,
37°C,
30 ml
10 min FM

Nous recommandons d'utiliser le pré-programme pour Profil/Cycle "Pas de mélange, mes. DO" pour une distribution homogène de la suspension cellulaire dans le tube du bioréacteur avant la mesure.

6.4. À l'heure actuelle, des études sont menées pour mieux comprendre les avantages des technologies de rotation inversée (RI) pour la croissance des différents types de micro-organismes tels que les levures et les bactéries lactiques.

6.5. L'utilisateur final peut contacter le fabricant pour conseiller ou suggérer qu'un micro-organisme ou une souche requise pour la culture soit testés. Pour toutes questions concernant l'application, veuillez contacter le département R&D de Biosan à l'une des adresses suivantes: science@biosan.lv, igor@biosan.lv, Igor Bankovsky, biotechnicien consultant.

7. Recommandations pour la création de paramètres personnels pour la culture de micro-organismes. Points à considérer:

- 7.1. Particularités de la répartition de la température (psychrophiles, mésophiles, thermophiles) les températures de croissance optimales pour les micro-organismes se divisent en trois principaux groupes (voir Fig. 3):

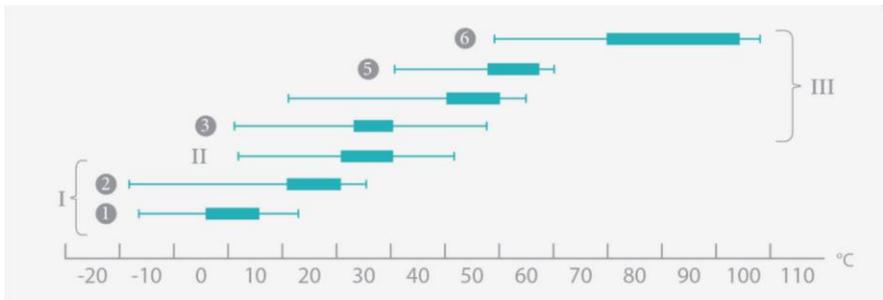


Fig. 3 Températures et zones de croissance optimales des procaryotes et leur classification.

I. Psychrophiles

- 1;
- 2 —facultatif.

II. Mésophiles.

III. thermophiles:

- 3 —thermotolérant
- 4 —facultatif;
- 5 —obligatoire;
- 6 —extrémophile

La marque épaisse représente la température de croissance optimale.

- 7.1.1 Pour les psychrophiles, le dispositif doit être installé dans une chambre froide ou réfrigérée. En dépit du dispositif de refroidissement actif, l'échantillon est chauffé par la partie supérieure ouverte du tube Falcon. De plus, il faut tenir compte du fait que la température actuelle du réacteur différera toujours de la température actuelle de l'échantillon à cause de sa rotation (à basse température en dessous de 10°C) et sera plus élevée.

- 7.1.2 Pour les micro-organismes mésophiles, le dispositif peut être réglé à température ambiante.
- 7.1.3 Pour les micro-organismes thermophiles, veuillez consulter la Fig. 4 pour voir la comparaison de la température du bloc thermostaté et la température réelle dans le tube en fonction de l'intensité de rotation.

		Real T°C inside the tube		
RPM	Thermoblock T°C	V=10ml	V=20ml	V=30ml
2000	70°C	65	62	60
2000	60°C	56	54	53
2000	50°C	46	44	43
2000	40°C	40	40	39
250	70°C	70	70	70
250	60°C	60	60	60
250	50°C	50	50	50
250	40°C	40	40	40

Fig. 4. Comparaison de la température du bloc thermostaté et de la température réelle dans le tube en fonction de l'intensité de rotation. Les données de point limite ont été collectées 1h30 après le début du processus de chauffage de la température ambiante

7.2. Croissance cellulaire en fonction de l'intensité rotative

Il faut savoir que l'aération affecte la croissance et le taux de croissance des micro-organismes aérobies. La fréquence de rotations inversées affecte le taux d'absorption d'oxygène dans le bioréacteur. Les résultats obtenus indiquent que le taux maximal de division cellulaire est détecté à la fréquence d'1 Rotation Inversée par seconde (1 s^{-1}) à une vitesse de 2 000 tpm. L'allongement de la pause entre les rotations inversées réduit le taux de croissance cellulaire, qui diminue jusqu'à 50% de sa valeur maximale, quand la fréquence RI est de 30 s^{-1} (voir Fig 5. et Fig. 6.).

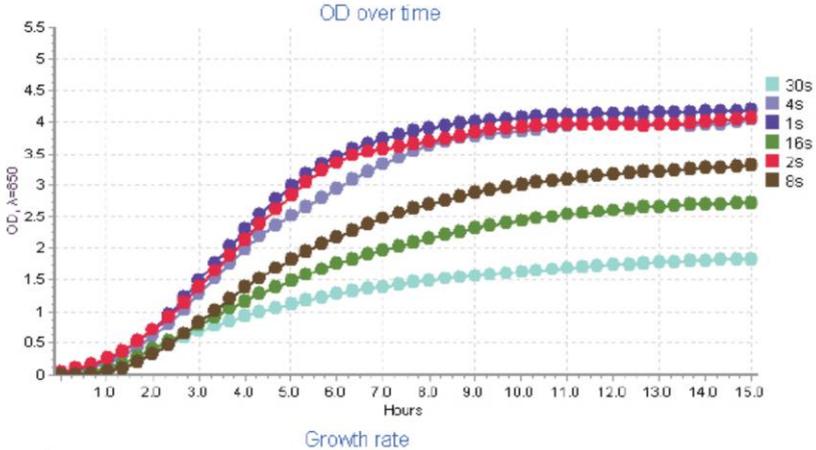
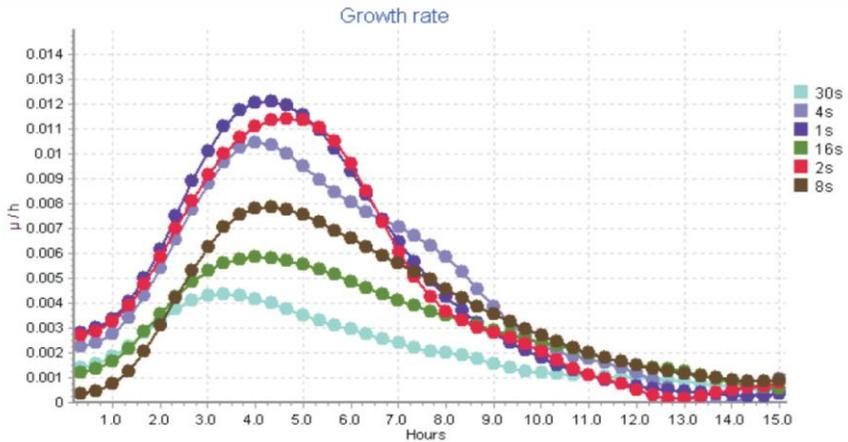


Fig. 5. Influence de la Fréquence de Rotations Inversées sur la Croissance cinétique ($\Delta OD(\lambda = 850 \text{ nm})/\Delta t$) vs Durée de fermentation (heures).

7.2.1. Légende de l'expérience (Fig. 5.): L'enregistreur de croissance cellulaire en temps réel RTS-1 a été utilisé avec une DEL de 850 nm, le volume de milieu de culture LB dans un tube Falcon de 50 ml est approximativement de 15 ml, Fréquence de Rotations Inversées 1, 2, 4, 8, 16, 30 s^{-1} , la fréquence de mesure est approximativement de 10 min^{-1} , vitesse de rotation du réacteur 2 000 tpm, température 37°C , diamètre des pores du filtre (pour l'aération) $0,25 \mu\text{m}$.



7.3. Aération et types de tubes recommandés

Pour les micro-organismes aérobies, nous recommandons d'utiliser des tubes que nous fournissons (TPP TubeSpin® Bioreactor 50 ml), mais pour les anaérobies aérotolérants *Lactobacillus acidophilus* il est nécessaire d'utiliser des tubes à essai avec couvercle hermétique (sans membrane). Pour des résultats optimaux de croissance des anaérobies aérotolérants, il est indispensable de sceller les bouchons des tubes TPP TubeSpin® Bioreactor 50ml avec du ruban adhésif. L'utilisateur peut aussi utiliser les tubes de centrifugeuse standard de 50 ml de type Falcon, à condition que ce tube soit aussi transparent que le tube TPP TubeSpin® Bioreactor.

7.4. Dimension des particules et coefficients d'étalonnage 600 nm/850 nm

Le calibrage de l'instrument est conçu pour des micro-organismes ayant une taille spécifique de $0,4-0,8 \times 1-3 \mu\text{m}$ et un volume cellulaire d'environ $0,6-0,7 \mu\text{m}^3$. Si la taille autorisée est dépassée, le système de mesure ne fonctionnera pas correctement.

Le coefficient du taux de conversion de densité optique DO ($\lambda = 850 \text{ nm}$) à DO ($\lambda = 600 \text{ nm}$) est égal à 2,2.

Exemple de calcul: pour convertir une DO de 3,5 ($\lambda = 850 \text{ nm}$) en DO ($\lambda = 600 \text{ nm}$), multipliez simplement le résultat par 2,2. Vous obtenez ainsi une DO de 7,7 ($\lambda = 600 \text{ nm}$).

7.5. Plage linéaire de mesure de DO en fonction du volume moyen (Fig. 7)

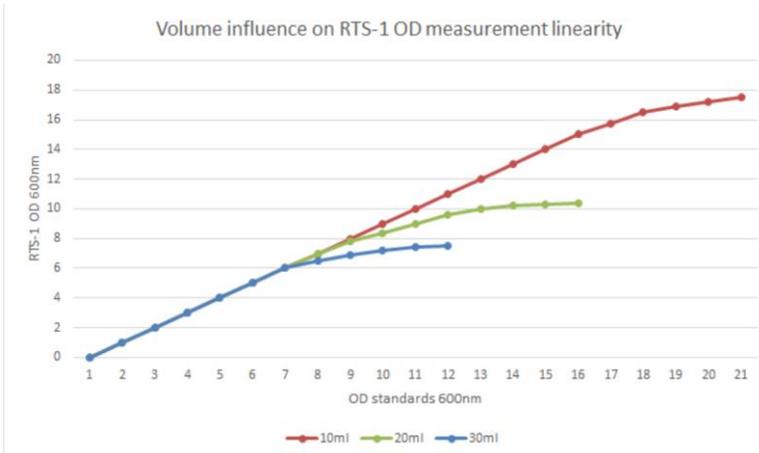


Fig 7. Influence du volume moyen de bouillon sur une plage linéaire de mesure de DO ($\Delta\text{OD}(\lambda = 850 \text{ nm})/\Delta t$) vs Durée de fermentation (heures).

Comme la Figure 7 le montre, le dispositif enregistre la densité optique de l'échantillon sur une plage linéaire jusqu'à atteindre une DO de 15 ($\lambda = 600 \text{ nm}$) pour un volume de 10 ml, une DO de 8 ($\lambda = 600 \text{ nm}$) pour un volume de 20 ml et une DO de 6 ($\lambda = 600 \text{ nm}$) pour un volume de 30 ml.

8. Caractéristiques techniques

L'appareil est conçu pour être utilisé à une température ambiante comprise entre +4°C et + 40°C dans une atmosphère ne formant pas de condensation et dont l'humidité relative maximale est de 80% pour des températures s'élevant jusqu'à + 31°C et diminuant linéairement jusqu'à 50% d'humidité relative à 40°C.

8.1.	Caractéristiques des mesures	RTS-1	RTS-1C
	Source lumineuse	DEL	
	Longueur d'ondes (λ), nm	850 \pm 15	
	Plage de mesures, DO	0...10,00 (\pm 0,18)	
	Mesure en temps réel, min/mesure	1—60	
	Paramètre de configuration de la durée, min	1	
8.2.	Spécifications de température	RTS-1	RTS-1C
	Plage de réglage, °C	+25...+70	+24...+70
	Point de contrôle le plus bas, °C	5 au-dessus de la T. ambiante	15 au-dessous de la T. ambiante
	Point de contrôle le plus élevé, °C	+70	
	Paramètre de configuration, °C	0,1	
	Stabilité, °C	\pm 0,1	
8.3.	Caractéristiques techniques	RTS-1	RTS-1C
	Volume d'échantillon, ml	5—30	
	Plage de vitesse, tpm	250—2 000	
	Configuration du paramètre de vitesse, tpm	1	
	Écran	LCD	
	Dimensions globales (L \times P \times H), mm	130 \times 212 \times 200	
	Poids*, kg	1,7	2,2
	Courant d'entrée/consommation électrique	12 V DC	
		3,3 A/40 W	5 A/60 W
	Alimentation externe	Entrée CA 100-240 V 50/60 Hz sortie CC 12 V	

Biosan s'est engagé à suivre un programme d'amélioration constante et se réserve le droit de modifier la conception et les spécifications de l'unité sans préavis supplémentaire.

* Précis à \pm 10 % .

9. Entretien

- 9.1. Si l'appareil a besoin d'être entretenu, débranchez-le du secteur et contactez Biosan ou votre représentant Biosan local.
- 9.2. Toutes les opérations d'entretien et de réparation doivent être effectuées uniquement par des techniciens qualifiés et spécialement formés.
- 9.3. De l'éthanol (75%) ou tout autre produit de nettoyage recommandé pour l'entretien du matériel de laboratoire peut être utilisé pour nettoyer et décontaminer l'appareil.
- 9.4. Nettoyez le rotor du dispositif pour enlever les gouttelettes de liquide toute trace éventuelle de contamination une fois la fermentation terminée.

10. Étalonnage du dispositif pour l'entretien



Remarque! Utilisez le calibrage seulement si le système de mesure ne marche pas correctement.

- 10.1. Allumez le dispositif.
- 10.2. Insérez un tube de centrifugeuse de 50 ml contenant 10 ml de H₂O dans le dispositif.
- 10.3. Réglez le paramètre de Volume sur 10 ml.
- 10.4. À l'aide du tableau de commande ou du panneau de configuration du logiciel, réglez TPM sur 2 000.
- 10.5. Appuyez sur le bouton **Run/Stop**.
- 10.6. Appuyez sur le bouton **Select** et maintenez enfoncé jusqu'à ce que le signal "CC" s'affiche sur l'écran.
- 10.7. Appuyez sur le bouton ▲: le nombre «0,00» s'affichera et clignotera sur l'écran.
- 10.8. Attendez 15 secondes et appuyez sur le bouton ▼:
- 10.9. Le dispositif est maintenant calibré et effectuera une mesure de vérification

11. Garantie et réclamations

- 11.1. Le Fabricant garantit la conformité de l'appareil avec les exigences de la norme, à condition que le client suive les instructions concernant l'utilisation, le stockage et le transport.
- 11.2. La garantie de l'appareil est de 24 mois à compter de la date de livraison au client. Contactez votre distributeur local pour vous renseigner sur la possibilité de prolonger la garantie.
- 11.3. Si des défauts de fabrication sont découverts par le client, une réclamation pour matériel inadéquat doit être remplie, certifiée et envoyée à l'adresse du distributeur local. Veuillez visiter la section Assistance technique sur le site www.biosan.lv pour obtenir le formulaire de réclamation.
- 11.4. Il vous faudra les informations suivantes dans le cas où vous auriez besoin de services après-vente pendant ou après la garantie. Complétez le tableau ci-dessous et conservez-le.

Modèle	Enregistreur de croissance cellulaire en temps réel: RTS-1/RTS-1C refroidissement
Numéro de série	
Date de vente	

12. Déclaration de conformité

Biosan SIA

Ratsupites 7, bât.2, Riga, LV-1067, Lettonie

Téléphone: +371 67860693, +371 67426137 Fax: +371 67428101

<http://www.biosan.lv>

Version 1.01 - Août 2014