

Contrôle qualité de microscopes à fluorescence





SERVICE DE CONTRÔLE QUALITE DE MICROSCOPES A FLUORESCENCE

POURQUOI?

Pour exploiter au maximum un microscope et l'utiliser de manière optimale, il faut qu'il soit en bon **état de fonctionnement** et **connaitre ses limites**. Cette problématique de **qualité** des instruments fournis par les plateformes techniques est grandissante comme le montrent la création et l'activité du réseau international « **QUAREP** » https://guarep.org/.

De nombreux résultats scientifiques sont issus de mesures sur des images de microscopie. Assurer une **traçabilité** des performances du système qui a permis de les obtenir, c'est garantir une meilleure **reproductibilité des résultats** au cours du temps, mais également la faciliter sur un autre appareil.

C'est pourquoi nous proposons un **service de contrôle qualité** pour vos instruments de microscopie optiques à fluorescence avec notre **partenaire Argolight**. Ce suivi va vous permettre :

- De vous aider à **valider** les performances d'un système lors de à son **installation initiale.**
- D'assurer une **traçabilité complète** des performances d'un système au cours du temps, grâce à un **rapport détaillé** de chaque test effectué sur le système.
- De détecter l'**apparition d'un dysfonctionnement,** bien souvent avant la panne bloquante.
- De **comparer** les performances de deux systèmes, ou bien les composants d'un système (objectifs, caméras, etc.).

COMMENT?

Pour réaliser ce contrôle qualité, nous utilisons lame **Argolight** une (https://argolight.com/) avec son logiciel de mesure associé Daybook. Les outils Argolight sont spécifiquement étudiés pour réaliser ce contrôle qualité. Nous les trouvons de plus en plus dans la littérature scientifique pour des mesures de performances de systèmes, ainsi que pour des contrôles dans des expériences en sciences de la vie (https://argolight.com/publications). Les lames Argolight font partie des outils permettant de suivre la norme ISO 21073:2019 pour la caractérisation des performances optiques d'un système de microscopie à fluorescence. (https://www.iso.org/standard/69820.html)

LES SYSTEMES CONCERNES

Microscopes optiques à fluorescence. Microscopes confocaux avec lasers visibles.

Contacter Lordil pour vérifier la faisabilité sur votre microscope : qualite@lordil.fr





LES TESTS EFFECTUES

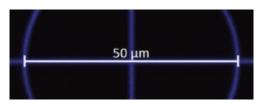
Voici les tests effectués lors d'un contrôle qualité d'un instrument par nos soins. Pour chaque test, il est précisé le type de système concerné :

- **CAM** pour les microscopes équipés d'une **caméra**.
- **LSM** pour les microscopes **confocaux à balayage laser** (« Laser Scanning Microscope »).

Pour un système, le service de contrôle qualité comprend **3 objectifs** et **4 longueurs d'ondes d'excitation**. D'autres paramètres de tests peuvent être ajoutés en option.

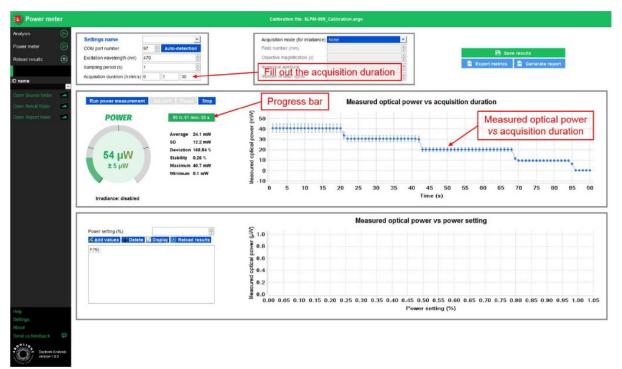
1) Vérifications des échelles : CAM/LSM

Pour tous les objectifs (pas uniquement les 3 principaux testés), nous réalisons une image sur une référence et on vérifie que les dimensions spatiales en X et Y sont correctes.



2) Puissance des sources lumineuses : CAM/LSM

Pour **un objectif 10x** (ou 20x), nous mesurons à l'aide du puissance-mètre de la **Argo-POWER**^{HM} la puissance lumineuse de la source avec un filtre type GFP pour les systèmes « CAM », ou de la puissance lumineuse des 4 principaux lasers pour les confocaux « LSM » (405nm / 488nm / 561nm / 633nm ou équivalents).



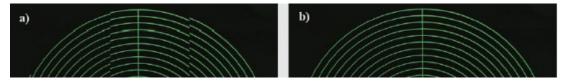




3) Alignement de la caméra : CAM

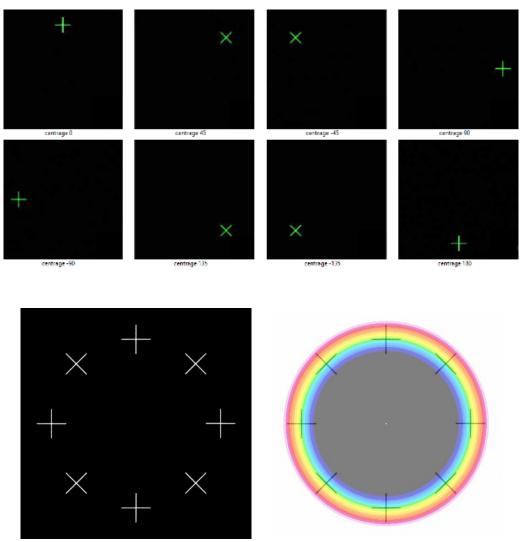
Une image mosaïque est réalisée sur un motif pour apprécier l'alignement de la caméra.

Une action corrective pourra être effectuée pour ajuster un mauvais alignement de caméra.



4) Qualité du centrage optique d'un confocal : LSM

Pour un « LSM », il est important que le balayage laser s'effectue de manière centrée sur l'axe optique. Pour vérifier cela, nous réalisons plusieurs images à différentes orientations du balayage pour identifier le centre de rotation du scanner par rapport au centre de notre image.



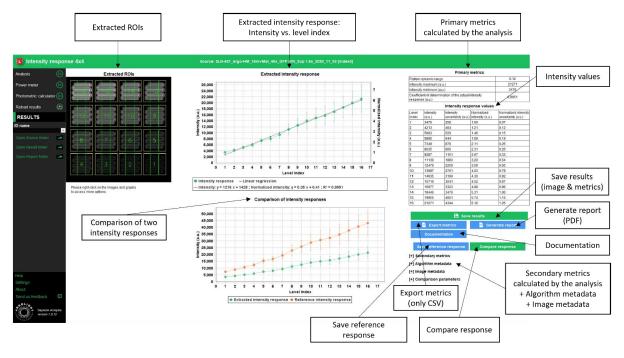
Grace à une carte codée en couleur, nous pouvons apprécier le positionnement du centre de rotation de notre scanner par rapport au centre de l'image.





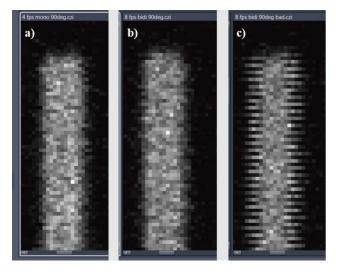
5) Linéarité de la détection : CAM/LSM

Pour un objectif et un canal de fluorescence donné, on capture un motif ayant des intensités linéairement croissantes. On mesure alors la linéarité du signal dans l'image finale.



6) Performance du scanner en mode bidirectionnel : LSM

Le but est de tester le bon contrôle du scanner en mode bidirectionnel, en réalisant une séquence temporelle sur 3 vitesses de scans différentes. Nous testerons le scanner X et le scanner Y.



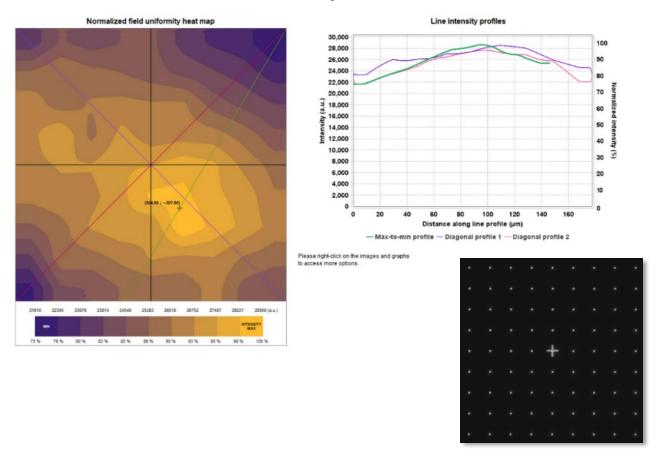
Il n'y a pour le moment pas d'algorithme donnant une valeur de mesure pour ce test. Mais il est facile d'apprécier la présence d'un mauvais recalage ou mauvaise stabilité du calage du scanner, comme cela est illustré dans la figure ci-dessus.





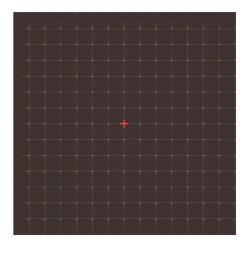
7) Uniformité du champ : CAM/LSM

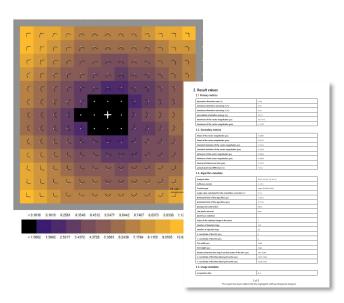
Nous capturons une image du motif de référence avec chaque canal de fluorescence pour chaque objectif. L'intensité de chacun des éléments est quantifiée pour définir une cartographie de l'uniformité de la fluorescence dans notre champ d'observation.



8) Distorsion du champ : CAM/LSM

Une image d'un champ de points de référence est capturée, puis comparée avec le maillage théorique. L'écart est quantifié dans un rapport et illustré dans une carte codée en couleur.





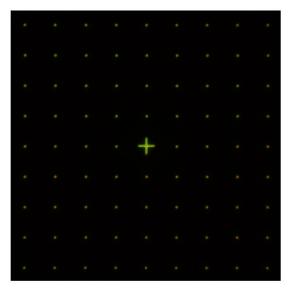




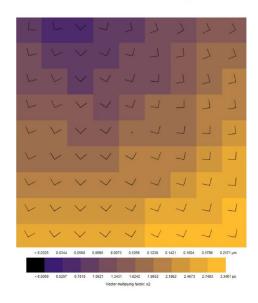
9) Précision de co-enregistrement entre les canaux de fluorescence : CAM/LSM

Nous réalisons une capture multicanaux pour chaque objectif, puis nous comparons la localisation relative des points de référence entre deux canaux à la fois. Une carte codée en couleur nous présente l'écart de localisation entre les canaux dans le champ d'observation.

Multichannel raw image

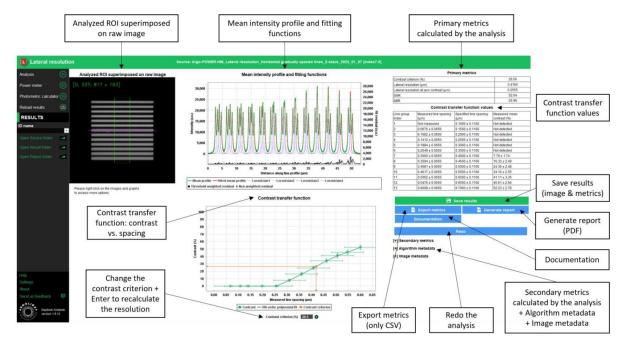


Normalized heat map



10) Résolution latérale : CAM/LSM

Nous testons ici le pouvoir séparateur de chaque objectif à l'aide d'un motif de doubles lignes proches les unes des autres, et dont l'espacement augmente graduellement. Lorsque La distance entre les lignes qui peuvent être discriminées par le microscope, le contraste associé ainsi que le rapport signal-sur-bruit dans l'image sont de bons indicateurs de résolution latérale, qui permettront de suivre l'état de l'objectif au cours du temps.

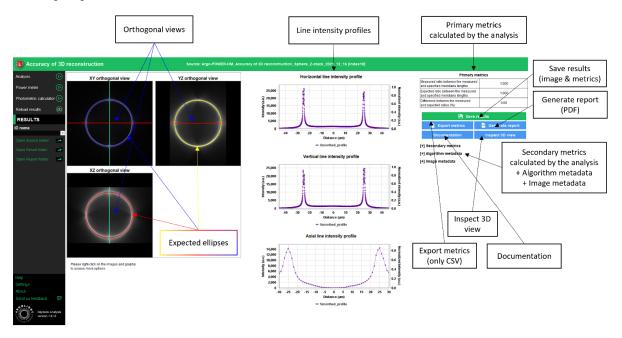






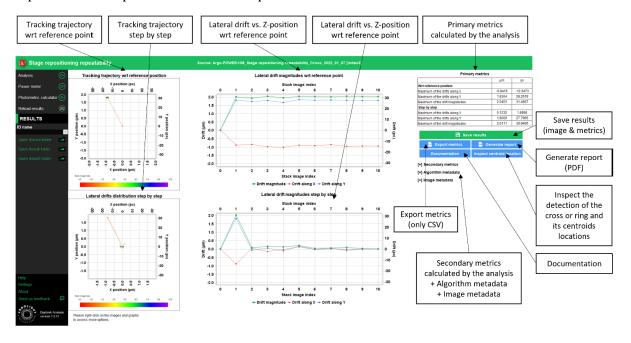
11) Précision de la reconstruction en 3D : CAM/LSM

Nous capturons en pile Z un objet connu et nous comparons l'image obtenue à l'image théorique que, nous aurions dû obtenir.



12) Répétabilité de repositionnement de la platine motorisée : CAM/LSM

Nous réalisons une capture d'un repère lors d'une séquence avec un déplacement défini de la platine. Nous analysons ensuite la position de ce repère au cours du temps pour établir la répétabilité de repositionnement de la platine selon ses deux axes.







Tous ces tests permettent à notre sens de **garantir une traçabilité de l'état du système** au cours du temps. Les **images brutes** ayant permis de réaliser les analyses seront fournies avec le **rapport détaillé** issu de leurs analyses avec les algorithmes de test du **logiciel Daybook**. Toutes les **documentations des tests** sont disponibles sur le site Argolight permettant la plus grande **transparence et traçabilité** sur l'ensemble des données fournies :

Images brutes ⇔ Descriptions des algorithmes de traitements ⇔ Rapport des résultats.

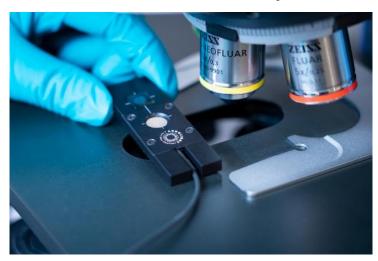
Cette traçabilité s'inscrit dans notre démarche de fournir tous les éléments pour vos processus de suivi qualité.

BESOIN DE PLUS DE MESURES?

Il est possible de réaliser sur demande des tests en plus de ceux proposés. Nous pouvons également réaliser des processus qualité selon un cahier des charges prédéfini, après une étude de leurs faisabilités.

LORDIL & ARGOLIGHT: DES PARTENAIRES A VOTRE SERVICE

Ce nouveau service est le fruit d'un partenariat entre la société **Argolight** qui développe des outils et logiciels de contrôle qualité et **Lordil** qui apporte son expertise en microscopie de fluorescence pour la réalisation des mesures sur vos microscopes.



Retrouvez-nous sur internet:

https://argolight.com/

https://lordil.fr



ARGOLIGHT SA

+33 (0)5 64 310 850 contact[at]argolight.com

11 Avenue de Canteranne. Cité de la Photonique, Bâtiment Elnath 33600 Pessac FRANCE LORDIL

+33 (0)9 77 56 31 23 contact[at]lordil.com



6 rue de l'Eglise 54690 Lay-Saint-Christophe FRANCE