بسم الله الرحمن الرحیم

مدیریت و کنترل کیفی تجهیزات
در آزمایشگاه پزشکی

آزمایشگاه مرجع سلامت

سرشناسه	: دارآفرین، حسین، ۱۳۴۳-
عنوان و نام پدیدآور	: مدیریت و کنترل کیفی تجهیزات در آزمایشگاه پزشکی/ تدوین و گردآوری حسین دارآفرین؛ گروه همکاری مینو احمدی‌نژاد ... [و دیگران]؛ به سفارش انجمن علمی آسیب‌شناسی ایران، آزمایشگاه مرجع سلامت کشور.
مشخصات ناشر	: تهران: پیام‌رسان، ۱۳۹۱.
مشخصات ظاهری	: ۲۳۰ ص.: جدول، نمودار
شابک	: ۵-۳۷-۵۱۹۶-۶۰۰-۹۷۸ ۵۰۰۰۰ ریال
وضعیت فهرست‌نویسی	: فیپا
یادداشت	: کتابنامه
موضوع	: پزشکی – آزمایشگاه‌ها – کنترل کیفی
موضوع	: پزشکی – آزمایشگاه‌ها – ابزار و وسایل
موضوع	: پزشکی – آزمایشگاه‌ها – مدیریت
موضوع	: تشخیص آزمایشگاهی – کنترل کیفی
شناسه افزوده	: احمدی‌نژاد – مینو، ۱۳۴۶ -
شناسه افزوده	: انجمن علمی آسیب شناسی ایران
شناسه افزوده	: آزمایشگاه مرجع سلامت کشور
رده‌بندی کنگره	: ۱۳۹۱ ۲۳د۹ک/۳/۳۶ RB
رده‌بندی دیویی	: ۶۱۶/۰۷۵۶
شماره کتابشناسی ملی	: ۲۸۹۰۹۷۱

عنوان: مدیریت و کنترل کیفی تجهیزات در آزمایشگاه پزشکی

به سفارش: انجمن علمی آسیب شناسی ایران، آزمایشگاه مرجع سلامت کشور

تدوین و گردآوری: دکتر حسین دارآفرین

گروه همکاری:

دکتر مینو احمدی‌نژاد، خانم آدم بکانی، دکتر سعید آزادارمکی، آقای بابک اسماعیلی، دکتر پیمان امیدوار، دکتر صغری انجرانی، مهندس امیرحسین بحرالعلومیان، دکتر محمدعلی برومند، دکتر فرحناز بیداری زره‌پوش، دکتر نیلوفر حاج صادقی، خانم رزیتا خنافری، دکتر پریسا داهیم، دکتر مسعود دونلو، دکتر فریناز راشد مرندی، مهندس احسان رضوانی، دکتر فریده رضی، دکتر محمد رهبر، دکتر مرجان رهنمای فرزامی، خانم نسرین سرشکی، دکتر ابراهیم سلیمانی، دکتر مژگان شاه‌حسینی، خانم مهناز صارمی، خانم رقیه صبوریان، دکتر مرتضی صدیقی، خانم یلدا غلامیان، مهندس مرضیه فخرایی، دکتر علیرضا کروریان، دکتر سیدمهدی کریمی شهیدی، آقای مرتضی کهندانی، دکتر فاطمه محجوب، آقای محمدی، دکتر پیمان محمدی‌تربتی، مهندس فرامرز ملک آسا، خانم آزرم نامی، دکتر زهره نوذریان، خانم منیژه وظیفه‌دوست، دکتر بهمن یوسف زاده

گروه ویراستاری:

دکتر مسعود دونلو، دکتر مرتضی صدیقی، دکترفاطمه محجوب، مهندس امیرحسین بحرالعلومیان

ناشر: انتشارات پیام رسان

لیتوگرافی، چاپ و صحافی: پیام‌رسان

واژه‌نگاری: سیدمحمد وکیل، سمیه قاسمی‌پور

شمارگان: ۲۰۰۰ جلد

قیمت: ۵۰/۰۰۰ ریال

نوبت چاپ: مرداد ماه ۱۳۹۱

شابک: ۵-۳۷-۵۱۹۶-۶۰۰-۹۷۸

هر گونه برداشت از مطالب این مجموعه با هماهنگی نویسنده و همکاران بلامانع است.

با سپاس از همکارانی که گردآورنده را در تدوین این مجموعه یاری نموده‌اند:

دکتر مینو احمدی‌نژاد

همکاری در تدوین و ویرایش نهایی دستورالعمل کوآگولومتر

دکتر سعید آزادارمکی

همکاری در تدوین دستورالعمل‌های فنی شیکر، روتاتور، الایزا ریدر، الایزا واشر و اصول پایه و مفاهیم محلول سازی

آقای بابک اسماعیلی

همکاری در تدوین دستورالعمل فنی اتوآنالایزر

دکتر پیمان امیدوار

همکاری در تدوین دستورالعمل فنی پردازنده بافتی

دکتر صغری انجرانی

همکاری در ویرایش و تدوین بخشی از دستورالعمل‌ها فنی تجهیزات

مهندس امیرحسین بحرالعلومیان

همکاری در تدوین و ویرایش دستورالعمل فنی لوپ، اتوآنالایزر، گاما کانتر، سدیمان آنالایزر، دستگاه‌های مرتبط با حفاظت برقی و ویرایش نهایی بخشی از دستورالعمل‌ها

دکتر محمدعلی برومند

همکاری در ویرایش و تدوین دستورالعمل فنی کواگولومتر

دکتر فرحناز بیداری زره‌پوش

همکاری در تدوین بخشی از دستورالعمل‌های فنی تجهیزات

دکتر نیلوفر حاج صادقی

همکاری در تدوین دستورالعمل فنی شمارنده سلول‌های خونی (سل‌کانتر)، سدیمان آنالایزر و کوآگولومتر

دکتر پریسا داهیم

ویرایش و همکاری در تدوین دستورالعمل‌های فنی شمارش‌گر سلول‌های خونی، کوآگولومتر و سدیمان آنالایزر

دکتر مسعود دونلو

ویرایش نهایی مجموعه، همکاری در تدوین دستورالعمل‌های فنی تجهیزات از جمله اتوآنالایزر، کوآگتولومتر، pH متر، سانتریفیوژ، فلیم فتومتر، سل‌کانتر، میکروهماتوکریت، هدایت سنج، هود، رفرکتومتر، سدیمان آنالایزر، الایزا ریدر، الایزا واشر، اسپکتروفتومتر، کمی لومینسانس و فصل اصول پایه و مفاهیم محلول‌سازی

دکتر فریناز راشدمرندی

ویرایش و همکاری در تدوین و ویرایش دستورالعمل‌های فنی لوپ و اتوکلاو

مهندس احسان رضوانی

همکاری در تدوین و ویرایش نهایی دستورالعمل‌های فنی‌لوپ، لوازم شیشه‌ای، پی‌پت، سمپلر، فتومتر و اسپکتروفتومتر

مدیریت و کنترل کیفی تجهیزات در آزمایشگاه پزشکی

دکتر فریده رضی

ویرایش نهایی و همکاری در تدوین دستورالعمل‌های فنی تجهیزات از جمله اتوآنالایزر، لوازم شیشه‌ای، پی‌پت، سمپلر، ترازو، سانتریفیوژ، دماسنج، فتومتر و اسپکتروفتومتر

دکتر محمد رهبر

همکاری در ویرایش دستورالعمل فنی هود بیولوژیک

دکتر مرجان رهنمای فرزامی

همکاری در تدوین دستورالعمل فنی میکروتوم و دستگاه پردازنده بافتی

خانم نسرین سرشکی

همکاری در تدوین دستورالعمل‌های فنی تجهیزات از جمله اتوانالیزر، کواگولومتر، pH متر، سانتریفیوژ، فلیم فتومتر، الایزا ریدر و واشر، هود، رفرکتومتر، سل‌کانتر، اصول پایه و مفاهیم محلول‌سازی

دکتر ابراهیم سلیمانی

همکاری در ویرایش دستورالعمل فنی اسپکتروفتومتر، فتومتر، اتوکلاو، ترازوی مکانیکی و الکترونیکی

دکتر مژگان شاه‌حسینی

همکاری در تدوین و ویرایش دستورالعمل فنی دماسنج

خانم مهناز صارمی

همکاری در تدوین دستورالعمل‌های فنی اتوکلاو، فور، انکوباتور، بن ماری

خانم رقیه صبوریان

همکاری در تدوین دستورالعمل فنی لوپ

دکتر مرتضی صدیقی

همکاری در تدوین و ویرایش نهایی بخشی از دستورالعمل‌های فنی تجهیزات

خانم یلدا غلامیان

همکاری در تدوین دستورالعمل فنی شیکر و روتاتور

مهندس مرضیه فخرایی

همکاری در ویرایش نهایی دستورالعمل فنی دستگاه‌های شمارنده پرتوهای گاما و بتا

دکتر علیرضا کروریان

ویرایش نهایی و همکاری در تدوین دستورالعمل فنی اتوآنالایزر و کمی لومینسانس

دکتر سیدمهدی کریمی شهیدی

ویرایش نهایی فصل اصول پایه و مفاهیم محلول‌سازی

آقای مرتضی کهندانی

همکاری در ویرایش و تدوین دستورالعمل فنی سدیمان آنالایزر

دکتر فاطمه محجوب

همکاری در ویرایش نهایی مجموعه

دکتر پیمان محمدی تربتی

همکاری در تدوین و ویرایش دستورالعمل فنی دماسنج

مهندس فرامرز ملک‌آسا

همکاری در تدوین و ویرایش دستورالعمل فنی گاما کانتر و دستگاه شمارنده پرتوهای گاما و بتا

خانم آزرم نامی

همکاری در تدوین بخشی از دستورالعمل‌های فنی تجهیزات

دکتر زهره نوذریان

همکاری در تدوین دستورالعمل‌های فنی میکروپلیت ریدر، الایزا واشر، کوآگولومتر و کمی لومینسانس

خانم منیژه وظیفه‌دوست

همکاری در تدوین دستورالعمل فنی الایزا ریدر

دکتر بهمن یوسف‌زاده

همکاری در تدوین دستورالعمل فنی میکروتوم

کارکنان بخش کنترل کیفی آزمایشگاه مرکزی، دانش و گرگان

آقایان محمدی و داود پارسا و خانم‌ها آدم بکانی، سمیه مهامی و رزیتا خنافری: همکاری در عملیاتی نمودن و تدوین دستورالعمل فنی اتوآنالیزر و همکاری در تدوین برخی از دستورالعمل‌های فنی تجهیزات

فهرست

فصل ۱- الزامات و دستورالعمل فنی تجهیزات ۱
- مقدمه ۳
- الزامات و استانداردهای تجهیزات ۴
- دستورالعمل فنی تجهیزات ۸
- دستورالعمل فنی اتوکلاو (دَمفشار) ۹
- دستورالعمل فنی انکوباتور (گرمخانه) ۱۳
- دستورالعمل فنی بن ماری ۱۵
- دستورالعمل فنی اجاق کوره (فور – اون) ۱۶
- دستورالعمل فنی یخچال ۱۹
- دستورالعمل فنی فریزر (منجمدگر) ۲۱
- دستورالعمل فنی دماسنج (ترمومتر) ۲۲
- دستورالعمل فنی اسپکتروفتومتر (طیف‌سنج) ۲۶
- دستورالعمل فنی فتومتر (نورسنج) ۳۲
- دستورالعمل فنی ترازوی مکانیکی ۳۴
- دستورالعمل فنی ترازوی الکترونیک ۳۶
- دستورالعمل فنی سمپلر (میکروپی‌پت) ۳۸
- دستورالعمل لوازم شیشه‌ای ۴۷
- دستورالعمل فنی پی‌پت ۵۱
- دستورالعمل فنی توزیع‌گر (دیسپنسر) ۵۵
- دستورالعمل فنی بالن ژوژه ۵۶
- دستورالعمل فنی استوانه مدرج ۵۸
- دستورالعمل فنی لوپ (میل حلقه) ۵۹
- دستورالعمل فنی فلیم فتومتر (نورسنج شعله‌ای) ۶۳
- دستورالعمل فنی میکروسکوپ ۶۶
- دستورالعمل فنی سانتریفیوژ ۷۰
- دستورالعمل فنی پردازنده‌های بافتی Tissue Processors (TP) ۷۵
- دستورالعمل فنی میکروتوم ۷۸
- دستورالعمل تهیه آب خالص و کنترل کیفی آن و تجهیزات مربوطه ۸۲
- دستورالعمل فنی هدایت سنج (کانداکتیویتی‌متر) ۸۵
- دستورالعمل فنی شمارش‌گر خودکار سلول‌های خونی ۸۷
- دستورالعمل فنی میکروهماتوکریت ۱۰۸

- دستورالعمل فنی سدیمان آنالایزر ۱۱۱
- دستورالعمل فنی کواگولامتر (نیمه اتوماتیک) ۱۲۰
- دستورالعمل فنی میکروپلیت ریدر ۱۲۷
- دستورالعمل فنی دستگاه میکروپلیت واشر ۱۳۲
- دستورالعمل فنی pH متر ۱۳۴
- دستورالعمل فنی رفرکتومتر ۱۳۹
- دستورالعمل فنی هودهای بیولوژیک ۱۴۰
- دستورالعمل فنی دستگاه‌های روتاتور سرولوژی، شیکر و میکسر ۱۴۵
- دستورالعمل فنی تجزیه‌گر خودکار شیمی (دستگاه اتوآنالایزر) ۱۴۸
- دستورالعمل فنی دستگاه‌های شمارنده پرتوهای گاما و بتا ۱۷۵
- دستورالعمل فنی دستگاه کمی لومینسانس ۱۸۲
- دستورالعمل فنی دستگاه‌های محافظ و تامین کننده برق در آزمایشگاه ۱۸۶

فصل ۲ – اصول پایه و مفاهیم محلول‌سازی ۱۹۵

- مقدمه ۱۹۷
- رقیق سازی ۱۹۸
  - رقیق‌سازی سریال و چندگانه ۱۹۸
  - رقیق‌سازی حجمی (مستقیم) ۱۹۹
- محاسبات مربوط به غلظت ۱۹۹
  - مولاریته ۱۹۹
  - اکی‌والان وزنی و نرمالیته ۲۰۰
  - محلول‌های نرمال و نرمالیته ۲۰۱
  - مولالیته ۲۰۲
  - محلول‌های درصدی ۲۰۲
  - محلول‌های بدون آب و آب‌دار ۲۰۴
  - محاسبات مربوط به دانسیته (چگالی) ۲۰۵

منابع مطالعاتی ۲۰۷

بنام آنکه جهان هستی از او یافت

آزمایشگاه بالینی به عنوان یکی از ارکان نظام سلامت نقش عمده‌ای در تشخیص و درمان بیماری‌ها بازی می‌کند و با توجه به تعدد و تنوع آزمون‌های تشخیصی, تصور طب بدون آزمایشگاه غیرممکن است. آزمایشگاه بالینی با به‌کارگیری روش‌های علوم پایه و پیوند زدن نتایج آزمون‌های آزمایشگاهی با بالین بیمار از نظر کمی تولیدکننده بیشترین اطلاعات لازم برای تشخیص و درمان بیماری‌ها است و در برخی موارد ارزشمندترین اطلاعات تشخیصی در آزمایشگاه به‌دست می‌آید. از این رو کیفیت نتایج به‌دست آمده از اهمیت بالایی برخوردار است و یکی از اصول مدیریت آزمایشگاه تضمین کیفیت خدمات ارایه شده است.

خوشبختانه در کشور ما حرکت‌های قابل توجهی در راستای افزایش کیفیت ارایه خدمات بالینی صورت گرفته است و در این راه آزمایشگاه بالینی نسبت به سایر بخش‌ها پیشتاز است. وجود تشکیلاتی تحت عنوان آزمایشگاه مرجع سلامت که با حضور متخصصان و نخبگان در زمینه‌های مختلف آزمایشگاهی مجموعه‌ای کارآمد را برای تدوین استانداردهای ملی فراهم آورده است، استقرار این استانداردها در آزمایشگاه‌های سراسر کشور را از اهم برنامه‌های خود می‌داند.

انجمن علمی آسیب شناسی ایران افتخار دارد که هماهنگ با آزمایشگاه مرجع سلامت در راستای استقرار استانداردهای آزمایشگاه بالینی گام‌های موثری برداشته است. برگزاری دوره‌های آموزشی، کارگاه‌های عملی، تربیت ممیزین و تدوین کتاب از اهم این اقدامات می‌باشند. نگارش کتاب "مدیریت و کنترل کیفی تجهیزات در آزمایشگاه پزشکی" که تقدیم علاقمندان می‌گردد و به کوشش آقای دکتر دارآفرین و همکاری طیف وسیعی از استادان و نخبگان آزمایشگاه بالینی میسر گردیده است، یکی از گام‌های بزرگ در ارایه مستندات مورد نیاز فعالین آزمایشگاه بالینی محسوب می‌شود و امید است که هم‌چون گذشته مورد استفاده کارکنان و مسئولین آزمایشگاه‌های سراسر کشور قرار گیرد.

اینجانب به نمایندگی از اعضای انجمن علمی آسیب شناسی ایران از تمامی عزیزانی که در تدوین این مجموعه همکاری کرده‌اند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

دکتر فرید کرمی

رئیس انجمن علمی آسیب شناسی ایران

مرداد ماه ۱۳۹۱

بنام آنکه جهان هستی از او یافت

طی چند دهه گذشته بیش از هر برهه زمانی دیگر توجه کشورها در سراسر دنیا به اهمیت خدمات آزمایشگاهی معتبر و به هنگام، به‌عنوان یکی از ارگان مهم در خط مقدم ارایه خدمات بهداشتی-درمانی منعطف شده است. ما نیز در کشورمان در چند دهه اخیر شاهد روند رو به بهبود خدمات آزمایشگاهی بوده‌ایم که این امر مرهون تلاش و تدبیر پیش‌کسوتانی است که مسیر ما را برای رسیدن به هدف، که ارتقاء سطح سلامت هموطنان عزیزمان است، هموار کرده‌اند.

صاحبان اندیشه در جهان کنونی، ایجاد تحول در نظام سلامت و حرکت آن به سوی تعالی را وابسته به تحول در رویکرد مدیریتی در این سیستم می‌دانند. براساس تجارب یک قرن گذشته، سیستم مدیریت کیفیت به‌عنوان یک نظام مدیریتی کارآمد و انعطاف‌پذیر برای بهینه‌سازی و اثربخشی عملکرد سازمان‌ها، در سطح بین‌المللی مورد استقبال چشمگیری واقع شده و به عبارتی تبدیل به یک "فرمول جدید موفقیت " برای قرن بیست و یکم گردیده است.

جامعه سخت کوش و پرتوان آزمایشگاهیان مفتخر است که از پیشگامان بهره‌گیری از این فرمول جدید در بخش بهداشت و درمان در کشورمان و هم‌چنین در بین کشورهای حوزه شرق مدیترانه بوده و گام‌های موثری در این جهت برداشته است.

این کتاب اصول سیستم مدیریت کیفیت در بخش تجهیزات را به نحو قابل درک و منطبق با اصولی که کارکنان آزمایشگاه با آن آشنا هستند و بسیاری از آن‌ها را از پیش آموخته بوده و به آن عمل می‌کرده‌اند، ارایه می‌نماید. با اجرای دقیق منویات این کتاب، کارکنان در سطوح مختلف کاری در آزمایشگاه، بتدریج شاهد تاثیرات مثبت استقرار سیستم کیفیت در بهبود روند انجام فعالیت‌های روزمره خود بوده و به اثربخش بودن آن معتقد خواهند شد.

ضمن تشکر و قدردانی از همه اساتید و دست اندرکارانی که تدوین و انتشار این مجموعه ارزشمند را ممکن ساخته‌اند، امیدوارم این کتاب بتواند تحولی سازنده در نگرش خواننده به مفاهیم سیستم مدیریت کیفیت در زمینه تجهیزات ایجاد کرده و استقرار کامل این سیستم را در آزمایشگاه‌های کشور تسریع و تسهیل نماید.

دکتر نوش آفرین صفادل
رئیس اداره مدیریت تضمین کیفیت آزمایشگاه مرجع سلامت
مرداد ماه ۱۳۹۱

به نام خداوند دانا و توانا

موجب نهایت مسرت است که نتیجه کوشش جناب آقای دکترحسین دارآفرین را که با مساعدت همکاران دلسوز و پرمایه کارشناسان آزمایشگاه مرجع سلامت و همکاران پاتولوژیست و علوم آزمایشگاهی با گردآوری و تالیف مطالب قابل استفاده در مورد مستندات استانداردهای آزمایشگاهی و به ویژه در حیطه تجهیزات فراهم آمده است را در پیش رو دارم. ناگفته نماند که در سال‌های دور اداره امور آزمایشگاه‌ها با امکانات موجود، استانداردهای نظارتی تدوین شده خود را در امر نظارت مورد استفاده قرار داد و در حدود ده سال قبل آزمایشگاه رفرانس با توجه به استانداردهای سازمان بهداشت جهانی بخشی را ترجمه و در اختیار علاقمندان قرار داد.

به علاوه در حدود ده سال قبل عده‌ای از همکاران علاقمند در یک موسسه استاندارد برای اولین بار موضوع استانداردهای مدیریت را در کنفرانس هفتگی انجمن پاتولوژی مطرح و نظر برخی از همکاران بخش خصوصی و آزمایشگاه رفرانس را بدان جلب و اقدام به اخذ گواهینامه استانداردهای مدیریت نمودند و در نهایت در سال ۱۳۸۵، به سفارش موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی استاندارد بین‌المللی ISO 15189 به نام استاندارد IR-ISO 15189 تدوین و برگردان آن به فارسی به تصویب نهایی رسید.

از آن پس به همت همکاران آزمایشگاه مرجع سلامت استانداردهای جهانی در مجموعه الگوهای عملی فهرست‌وار تدوین و در اختیار آزمایشگاه‌ها قرار گرفتند تا بر حسب قوانین خاص، خود را برای انطباق با آن آماده سازند و به علاوه انجمن‌های آزمایشگاهی با برگزاری دوره‌هایی برای مدیران و کارکنان آزمایشگاهی آنها را با اصول استانداردها آشنا نمودند. در این مسیر بیش از هر چیز ایجاد باور به یک سیستم هماهنگ، که بتواند علاوه بر کنترل کیفی به ارتقاء کیفیت و صدور پاسخ‌های صحیح آزمایشگاهی کمک نماید، مورد نظر می‌باشد.

لازم به ذکر است که زیر بنای موجود آزمایشگاه‌های ایران عمدتا با مشکلات مختلف خود از استانداردهای جهانی فاصله دارد و ایجاد علاقه و اشتیاق در کارکنان و مدیران و مسئولین فنی است که می‌تواند آنان را علیرغم مشکلات اقتصادی و تعرفه‌های غیر واقعی در حدود امکانات، آماده استقرار سیستم‌های استاندارد نمایند. بنابراین هرگونه سعی در آشنایی با ارکان استانداردها، اهداف، خط‌مشی مناسب و علی‌الخصوص مستندسازی و روش‌های کار و راهنماهای مختلف از طریق کارگاه‌ها و انتشارات می‌تواند در جهت این آمادگی همکاران آزمایشگاهی را یاری دهد.

در این مجموعه الزامات و دستورالعمل فنی تجهیزات گردآوری شده که تعدادی از آنها برای اولین بار به خوانندگان عرضه شده است و به همین دلیل علاوه بر انطباق با مستندات معتبر

کـارآزمایی‌هـای مختلفی بـر روی آن صـورت گـرفته است. مطالعه ایـن مجموعه بـا این گستردگی می‌تواند به عنوان یک منبع معتبر و خط راهنمای اصلی در این زمینه به خوانندگان یاری رساند.

این مجموعه با تلاش همکاران عزیز و دانشمند آزمایشگاه مرجع سلامت و سایر دوستان علاقمند توسط جناب آقای دکتر حسین دارآفرین، و همکاری ویژه آقایان دکتر مسعود دونلو، دکتر مرتضـی صدیقی، مهندس امیرحسین بحرالعلومیان و خانم‌ها دکتر صغری انجرانی و دکتـر فاطمـه محجـوب که در ویرایش نهایی کتاب تلاش وافری داشته‌اند، تدوین گردیـده و نمونـه‌ای از پشـتکار و جـدیت بوده و اینجانب لازم می‌دانم ضمن تشکر از زحمات ایشان برای همگی پاداش الهی آرزو نمایم.

دکتر بهروز شفقی

عضو هیئت مدیره انجمن آسیب‌شناسی ایران

مرداد ماه ۱۳۹۱

به نام یگانه آفریدگار هستی

مفهوم استاندارد به معنی حداقل ویژگی‌ها و الزامات ضروری برای حصول اطمینان از کیفیت یک سیستم (سامانه)، یک محصول و یا یک خدمت در پروژه‌های مختلف صنعتی، کشاورزی، آموزشی، پزشکی و غیره از سال‌ها پیش مورد نظر صاحب‌نظران قرار گرفته است. استاندارد ISO 15189 استاندارد ویژه‌ای برای آزمایشگاه‌های پزشکی است که توسط سازمان ایزو در سال ۲۰۰۳ میلادی منتشر و در سال ۲۰۰۷ میلادی مورد بازنگری قرار گرفته است. این استانداردها، استانداردهای تلفیقی در اصول مدیریتی و فنی است که مفهوم تعریف شده فوق را در آزمایشگاه‌های پزشکی توصیف می‌نماید. با تصویب آزمایشگاه مرجع سلامت در خصوص الزام آزمایشگاه‌های پزشکی در رعایت استانداردهای تدوینی در چند سال اخیر شاهد جهشی بزرگ و تغییرات بنیادین در وضعیت ساختار نظام سلامت به‌ویژه در بخش آزمایشگاه‌های کشور در چند سال اخیر بوده‌ایم و امید می‌رود که تمام ارایه دهندگان این خدمات از یک سو و استفاده‌کنندگان آن‌ها از سوی دیگر این تغییرات را نهادینه نمایند. گرچه هنوز تا وضعیت مطلوب مسیر درازی در پیش است. در این راستا انجمن علمی آسیب شناسی ایران مشارکت در این برنامه‌ها را در دستور کار قرار داده‌است که یکی از این فعالیت‌ها تدوین مجموعه‌ای است که در اختیار شما قرار می‌گیرد. این مجموعه با عنوان «مدیریت و کنترل کیفی تجهیزات در آزمایشگاه پزشکی» تدوین گردیده است که هر بخش آن با توجه به گروه هدف و رعایت سلسله مراتب به تفکیک تنظیم گردیده است. در فصل اول این مجموعه دستورالعمل‌های فنی بخش عمده‌ای از تجهیزات آزمایشگاهی به تفصیل شرح داده شده است. در نگارش این بخش علاوه بر مستندات معتبر در حد امکان کارآزمایی لازم در خصوص نحوه استفاده از این دستورالعمل توسط کارشناسان مجرب انجام گرفته است. در این فصل بخش عمده‌ای از دستورالعمل فنی تجهیزات اساسی آزمایشگاه پزشکی مورد بحث قرار گرفته است. در فصل دوم این مجموعه اصول پایه و مفاهیم اساسی محلول سازی نیز مورد بحث قرار می‌گیرد. این مهم ماحصل تلاش گروهی از متخصصان آسیب شناسی و علوم آزمایشگاهی با همکاری کارشناسان آزمایشگاه مرجع سلامت است. امید است مخاطبین محترم نیز با مطالعه این مطلب و به‌کارگیری آن‌ها در فعالیت‌های آزمایشگاهی خود ضمن ارتقا وضع موجود با ارایه نظرات و تجربیات مفید ما را در اصلاح نگارش و ویرایش‌های احتمالی یاری نمایند.

با توجه به مصوبات فرهنگستان زبان و ادب فارسی مبنی بر استفاده از واژه‌های فارسی به‌جای واژه‌های بیگانه، در این مجموعه تلاش گردیده یا به‌کارگیری این واژه‌های جدید مصوب، مقدمات آشنایی همکاران، با این واژه‌ها فراهم شود.

سپاس و تشکر قاصر اینجانب، متوجه یکان یکان از همراهان و اعضای خانواده که در این مدت با شکیبایی شرایط را مساعد نمودند، از اعضای محترم هیات مدیره انجمن آسیب شناسی به خاطر تسهیل در شرایط و قراردادن امکانات لازم، از جناب آقای دکتر مسعـود دونلو به خاطر ویرایش نهایی و مطابقت مطالب، تعیین سرفصل‌ها با معیارهای سازمان بین‌المللی استاندارد و تدوین بخش‌هایی از این مجموعه و سایر همکاران ایشان در این زمینه به ویژه آقای دکتر مرتضی صدیقی، خانم دکتر فاطمه محجوب، خانم دکتر صغری انجرانی و آقای مهندس امیرحسین بحرالعلومیان که در ویـرایش نهایی ایـن مجموعه تـلاش وافری داشته‌اند و مجددا از تمامی گروه محترم همکاری به‌ویژه دکتر مینو احمدی‌نژاد، خانم آدم بکانی، دکتر سعید آزاد ارمـکی، آقای بـابـک اسماعیلی، مهندس امیرحسین بحرالعلومیان، دکتر محمدعلی برومند، دکتر فرحناز بیداری زره‌پوش، دکتر نیلوفر حاج‌صادقی، دکتر پریسا داهیم، دکتر مسعود دونلو، دکتر فریناز راشدمرندی، مهندس احسان رضوانی، دکتر فریده رضی، دکتر محمد رهبر، دکتر مرجان رهنمای فرزامی، خانم نسرین سرشکی، دکتر ابراهیم سلیمانی، دکتر مژگان شاه‌حسینی، خانم رقیه صبوریان، دکتر مرتضی صدیقی، خانم یلدا غلامیان، مهندس مرضیه فخرایی، دکتر علیرضا کروریان، دکتر سیدمهدی کریمی شهیدی، آقای مرتضی کهندانی، دکتر فاطمه محجوب، آقای محمدی، دکتر پیمان محمدی‌تربتی، مهندس فرامرز ملک آسا، خانم آزرم نامی، دکتر زهره نوذریان، خانم منیژه وظیفه‌دوست، هم‌چنین از سـرکـارخـانم سمیه قـاسمی‌پور در واژه‌نگاری، از آقایان سیدمحمد وکیل و مهدی نداف‌زاده در واژه‌نگـاری و صفحه‌آرایـی و خانم منظر عباسپور و آقای حمید خلیلی در تدارکات مجموعه، آقای مسلم عرب باصری در طراحی جلد و هماهنگی امور چاپ، مدیـریت و کارکنان انتشارات پیام‌رسان به‌ویژه جناب آقای عبدالله طهماسبی در چاپ و انتشار این مجموعه بوده و هست.

در آغاز و فرجام سخن خداوند سبحان را منت دارم که لیاقت این توانایی و فرصت را به اینجانب عنایت بخشید تا بتوانم با سعی خود و همکاران مجموعه‌ای درخور و متناسب با نیاز مخاطب فراهم آوریم و تقدیم جمیع همکاران نماییم.

دکترحسین دارآفرین

مرداد ماه ۱۳۹۱

فصل اول

الزامات و دستورالعمل فنی تجهیزات

الزامات و دستورالعمل فنی تجهیزات

مقدمه

یکی از مولفه‌های موثر در فرآیندهای قبل از آزمایش، انجام آزمایش و پس از آزمایش، تجهیزات مناسب است که مسئولین فنی و کاربران این تجهیزات در موقع کار با آن‌ها باید ضمن اطمینان از صحت عملکرد تجهیز مربوطه، آموزش لازم جهت تدوین مستندات مربوطه را کسب نمایند. به این منظور و آشنایی هرچه بیشتر کارکنان آزمایشگاه در این فصل به دو بخش مهم در این خصوص توجه گردیده است.

الف) آشنایی با الزامات و استانداردهای تجهیزات در آزمایشگاه

در بخش اول این فصل الزامات و استانداردهای تجهیزات در آزمایشگاه که توسط آزمایشگاه مرجع سلامت تدوین گردیده است، به طور کامل و بدون هیچ گونه دخل و تصرفی جهت آشنایی خوانندگان ارایه می‌گردد. اگر چه این بخش در جلد سوم نیز تکرار شده است اما به دلیل سهولت و دسترسی آسان کاربران تجهیزات و خوانندگان محترم تکرار این بخش ضروری به نظر می‌رسد.

ب) دستورالعمل فنی تجهیزات پایه

یکی از مهم‌ترین مستندات آزمایشگاه، دستورالعمل فنی تجهیزات است که با توجه به تنوع و پیچیدگی‌های تجهیزات، لزوم رعایت استانداردهای مشخص و یکسان در این خصوص ضروری می‌باشد. لذا در این بخش تلاش گردیده است تا حد امکان دستورالعملی برای تمامی تجهیزات پایه ارایه شود که مطابق با مراجع علمی معتبر بوده و در آن اطلاعات ضروری و نحوه کاربرد آن تجهیز از جمله چگونگی کاربری، کنترل کیفی، نگه‌داری و ملاحظات عمومی مشخص گردیده باشد. توصیه ضروری دیگر، نحوه کاربری دستگاه است که به علت تفاوت در نوع دستگاه و مدل آن پیشنهاد می‌گردد، مسئول فنی آزمایشگاه با توجه به کتابچه راهنمای دستگاه، این قسمت را تکمیل نموده و در دستورالعمل فنی تجهیز مربوطه جایگزین نماید. لازم به ذکر است که در تدوین این دستورالعمل‌ها علاوه بر مطالعه مستندات معتبر و الگوبرداری از آن‌ها، تلاش گردیده تا با توجه به امکانات آزمایشگاه‌های مختلف و با تأکید بر رعایت استانداردهای بین‌المللی مطالب ارایه شده قابلیت اجرایی مطابق با استانداردهای مذکور را داشته باشد. لازم به ذکر است در تدوین بعضی از دستورالعمل‌ها از جمله اتوآنالایزر، علاوه بر توجه به مستندات علمی روز، تلاش گردیده تا انواع آزمون‌های کنترل کیفی در مراکز نمونه عملیاتی شده و نتایج آن تقدیم همکاران گردد. هم‌چنین در تدوین دستورالعمل‌های مرتبط با ابزار حجمی و شیشه‌ای با همکاری کارشناسان اداره استاندارد و به‌کارگیری نظرات آنان تلاش گردیده تا مطالب ارایه شده کاربردی و برای خوانندگان قابل استفاده باشد.

الزامات تجهیزات آزمایشگاه

۱ – تنوع و تعداد تجهیزات در آزمایشگاه

تجهیزات موجود در آزمایشگاه باید کاملا متناسب با فهرست انواع آزمایش‌هایی که درمحل آزمایشگاه انجام می‌شود و حجم کاری در آزمایشگاه باشد .چنانچه آماده‌سازی یا ارسال نمونه برای انجام آزمایش در آزمایشگاه ارجاع (آزمایشگاهی که نمونه جهت انجام آزمایش به آنجا ارسال می‌گردد)، نیاز به تجهیزات خاصی داشته باشد این امکانات نیز می‌بایست فراهم گردند. به عبارتی مشخصات تجهیزات و اجزا آن باید با اهداف و نیازهای از پیش تعریف شده در آزمایشگاه مطابقت داشته باشد. حداقل تجهیزات پایه که در بدو تاسیس می‌بایست در آزمایشگاه موجود باشد، در فصل ضمایم آورده شده است.

۲ – خرید تجهیزات

الف) هنگام انتخاب و خرید تجهیزات باید به تاییدیه‌های معتبرکارکردی (تاییدیه‌های معتبرخارجی یا تاییدیه آزمایشگاه رفرانس) و گواهی‌های مربوط به ایمنی تجهیز توجه گردد.

ب) ملاک انتخاب تامین‌کنندگان (فروشندگان) تجهیزات، می‌بایست مشخص باشد و خرید تجهیزات از تامین‌کنندگانی انجام شود که قانونا به ثبت رسیده و قبلا مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند.

ملاک انتخاب تامین‌کنندگان به عنوان مثال می‌تواند کیفیت کالای عرضه شده، به روز بودن تکنولوژی، خدمات مناسب بعد از فروش، حسن سابقه، دارا بودن مجوز و تاییدیه‌های لازم از وزارت بهداشت، در دسترس بودن، توانمندی علمی شرکت پشتیبان، شرایط تحویل یا بسته‌بندی مناسب و نحوه همکاری مالی باشد. نمونه‌ای از برگه ملاک انتخاب تامین‌کنندگان در فصل ضمایم ذکر گردیده است.

۳- نصب و محل استقرار تجهیزات

الزامات و فضای مورد نیاز برای نصب دستگاه، شامل شرایط محیطی مورد نیاز در محل نصب (از نظر دما، رطوبت، نور، تهویه، گرد و غبار، ارتعاش، میدان‌های مغناطیسی و غیره)، شرایط فنی و امکانات جانبی مورد نیاز (منبع الکتریسیته، آب، گاز، فاضلاب و غیره) و شرایط ایمنی (تشعشعات، پسماند، الکتریسیته و غیره) براساس توصیه‌های سازنده، باید به دقت رعایت گردد.

۴- اطمینان از صحت عملکرد تجهیزات

بعد از خرید و نصب دستگاه و قبل از شروع به کارگیری، صحت عملکرد دستگاه باید با استفاده از کنترل‌های مناسب یا روش‌های درج شده در بروشور تجهیزات، مورد ارزیابی قرارگیرد. بدیهی است این اقدام به شکل دوره‌ای به صورت فعالیت‌های کنترل و نگه‌داری تجهیزات و هم‌چنین پس از هر بار تعمیر دستگاه، باید انجام شود.

۵ – کاربری تجهیزات

مهارت فنی مورد نیاز جهت کار با دستگاه‌ها می‌بایست مشخص گردد. تعیین فرد یا افراد مجاز به کار با دستگاه/ سامانه و آموزش کامل افراد مجاز، شامل آموزش نحوه کارکرد،کنترل و نگه‌داری، نحوه تدوین مدارک و نگه‌داری سوابق مربوطه باید صورت پذیرد.

۶ – مستندات مربوط به تجهیزات

در هر آزمایشگاه مستندات زیر در ارتباط با تجهیزات فنی باید موجود باشد:

الف) فهرست تجهیزات موجود در آزمایشگاه

آزمایشگاه می‌بایست فهرستی از تجهیزات موجود با ثبت محل استقرار هر یک را در اختیار داشته باشد. در این فهرست می‌توان جهت سهولت ردیابی، به هر تجهیز شماره یا رمز شناسایی اختصاص داد.

این فهرست باید به روز بوده و چنانچه تجهیزی خریداری و یا از سرویس خارج گردد مـی‌بایسـت در آن ثبت شود.

ب) سوابق مربوط به خرید تجهیزات

آزمایشگاه می‌بایست درخواست خرید، رسید فروش، سوابق ارزیابی و تایید کیفیت دستگاه قبل از استفاده در آزمایشگاه و سوابق مربوط به آموزش کارکنان برای کاربری دستگاه را نگه‌داری نماید.

پ) شناسنامه تجهیزات

شناسنامـه تجهیزات بـه منظور شناسایی هـر تجهیز معمولا در یـک بـرگ تهیه می‌شود و حاوی اطلاعات مربوط به مشخصات دستگاه، کاربران ویژه (در موارد مقتضی)، تاریخ خرید و شروع به کار دستگاه در آزمایشگاه، وضعیت دستگاه در هنگام خرید (نو، مستعمل، بازسازی شده)، چگونگی تماس با شرکت سازنده یا پشتیبان و سایر توضیحات لازم است.

در فصل ضمایم نمونه‌ای از شناسنامه تجهیزات ارایه گردیده است.

شناسنامه تجهیزات باید تا مدت زمانی که از تجهیز در آزمایشگاه استفاده می‌گردد، حفظ شود.

ت) دستورالعمل فنی تجهیزات

این دستورالعمل برای هر یک از تجهیزات به طور جداگانه و با استفاده از دستورالعمل سازنده که همراه دستگاه است و هم‌چنین مطابق با مراجع علمی معتبر تهیه می‌گردد و حاوی تمامی اطلاعات ضروری مربوط به دستگاه و نحوه کاربرد آن است. نمونه‌هایی از دستورالعمل‌های فنی تجهیزات پایه در ادامه این فصل ارایه می‌گردد.

این اطلاعات عبارتند از:

- چگونگی کاربری: شرح مرحله به مرحله نحوه کار با دستگاه

- نحوه کنترل و نگه‌داری: اقداماتی که به این منظور باید انجام شود، شامل فواصل نگه‌داری (روزانه، هفتگی، ماهانه و غیره) و مقادیر مورد ارزیابی در نگه‌داری (مثلا دما، حجم، فشار، دور در دقیقه و غیره) است.
- مراحل اقداماتی که در صورت نیاز به تعمیر باید انجام گیرد و تعیین مسئول مربوطه
- ملاحظات ایمنی جهت کار با دستگاه

دستورالعمل فنی تجهیزات باید تا مدت زمانی که از تجهیز در آزمایشگاه استفاده می‌شود، حفظ گردد.

ث) Log Book

دفترچه یا برگه‌ای که در کنار هر تجهیز قرار می‌گیرد و اطلاعات مربوط به هر بار استفاده از دستگاه شامل نام کاربر، تاریخ و ساعت استفاده از دستگاه، وضعیت دستگاه در شروع و خاتمه کار را مشخص می‌نماید. نمونه‌ای از این برگه در قسمت ضمایم درج گردیده است.

ج) سوابق مربوط به کنترل و نگه‌داری تجهیزات

تمامی اقدامات پیشگیرانه که به شکل ادواری (روزانه، هفتگی، ماهیانه و غیره) جهت کنترل، نگه‌داری و سرویس تجهیز در داخل آزمایشگاه انجام می‌شود باید ثبت و مستند گردد. جهت ثبت اقدامات انجام شده و نتایج بدست آمده، می‌توانیم دفتری را اختصاص دهیم یا جهت سهولت برگه مخصوصی رابه دلخواه طراحی نماییم. در هر حال اطلاعات زیر حتما باید ثبت گردد:

- نام و محل استقرار دستگاه (و شماره شناسایی در صورت شماره گذاری دستگاه‌ها)
- عامل مورد نظارت (مانند دما، حجم، فشار، دور در دقیقه و غیره)
- زمان و فواصل انجام کار
- نتایج حاصله
- در صورت وجود اشکال، اقدامات اصلاحی انجام شده (این اقدامات ممکن است تنظیم و یا تعمیر دستگاه باشد)
- فرد مسئول

نمونه‌هایی از برگه‌های کنترل و نگه‌داری تجهیزات مختلف در بخش ضمایم آورده شده است.

چ) سوابق مربوط به سرویس یا تعمیر تجهیزات

هر بار که اقدامی در خارج از آزمایشگاه جهت پیشگیری از خرابی (سرویس دستگاه) و هم‌چنین تعمیر دستگاه پس از خراب شدن آن انجام می‌شود باید مکتوب و مستند گردد و در پوشه یا فایل مربوط به آن دستگاه نگه‌داری شود. جهت سهولت ثبت اقدامات انجام گرفته می‌توان برگه‌ای را به دلخواه طراحی نمود. طراحی این برگه نیز اختیاری است ولی باید حداقل حاوی اطلاعات ذیل باشد:

- نام و محل استقرار دستگاه (و شماره شناسایی در صورت شماره‌گذاری دستگاه‌ها)
- تاریخ خروج از کار و تاریخ سرویس یا تعمیر

- مسئول و نحوه ضدعفونی دستگاه قبل از سرویس یا تعمیر تا در هنگام سرویس یا تعمیر هیچ‌گونه احتمال آلودگی برای تعمیرکار وجود نداشته باشد. جهت انجام این کار می‌توان از محلول‌های تجاری آماده استفاده نمود. در صورت عدم دسترسی به این محلول‌ها، می‌توان از الکل ۷۰٪ استفاده نمود که به تجهیزات آسیب نمی‌رساند.
- شرح تنظیمات یا تعمیرات انجام شده (که به‌طور معمول در رسید ارایه شده یا برگه الصاق شده به رسید، توسط شرکت پشتیبان درج می‌گردد).
- مسئول و نحوه تایید فنی دستگاه پس از سرویس یا تعمیر و قبل از ورود به جریان کار (حداقل شامل آزمایش بر روی کنترل‌های تجاری و ارزیابی نتیجه مورد انتظار).

نمونه‌ای از برگه سوابق سرویس و یا تعمیر در فصل ضمایم درج گردیده است.

نکات:

- ***آزمایشگاه باید تمامی دستگاه‌ها، وسایل و امکانات لازم برای انجام آزمایش‌هایی که در محل انجام می‌دهد را دارا باشد. وجود دستگاه‌هایی مانند فتومتر، سل کانتر، فلیم فتومتر، الایزا ریدر و یا گاما کانتر در صورتی‌که برای انجام آزمایش‌ها به وجود آن‌ها نیاز باشد ضروری است.***
- ***ابزار شیشه‌ای حجمی باید از کلاس قابل اطمینان (کلاس A) و دارای گواهی کالیبراسیون (برسنجی) بوده یا قبل از استفاده از صحت آن‌ها اطمینان حاصل شود.***
- ***باید تجهیزات مورد نیاز برای حفاظت و ایمنی کارکنان و فضای آزمایشگاه موجود باشد.***

دستورالعمل فنی تجهیزات

دستورالعمل فنی اتوکلاو (دَمفشار)

کلیات

اتوکلاو وسیله‌ای است که با استفاده از حرارت بخار آب تحت فشار، برای سترون‌کردن محیط‌های کشت، محلول‌ها، پسماندهای آلوده و مواد خشک مورد استفاده قرار می‌گیرد.

چگونگی کاربری

- **سترون سازی محیط‌های کشت و محلول‌ها**

بهتر است از لوله و ارلن‌های درپیچ‌دار استفاده شود. درپیچ آنها را شل کنید. بیش‌تر از دو سوم لوله‌ها را پر نکنید. باید اشیا با یکدیگر و نیز با دیواره‌های اتوکلاو حداقل پنج سانتی‌متر فاصله داشته باشند. ظروف و کلیه اشیا را به‌صورت افقی در کنار یکدیگر قرار دهید و در صورت نیاز به قرار دادن اشیا بر روی یکدیگر آن‌ها را بر روی جا لوله‌ای (Rack) قرار دهید تا بخار بین آن‌ها جریان یابد. درب اتوکلاو را ببندید. زمان و دما را تنظیم کنید. زمان توصیه شده ۱۵ دقیقه برای دمای ۱۲۱°C با ۱۵ دقیقه زمان خروج بخار است.

زمان‌های پیشنهادی شامل: برای ۵۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت ۱۸ دقیقه، برای ۱۰۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت ۲۱ دقیقه و برای ۱۵۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت ۲۴ دقیقه است. به‌طور کلی برای افزودن هر ۵۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت، سه دقیقه به زمان سترون سازی اضافه می‌شود. اما چون اکثر محیط‌های کشت به زمان و دمای خاصی نیاز دارند، توصیه می‌شود که طبق دستورالعمل سازنده عمل شود. نباید زمان و دمای سترون سازی توصیه شده توسط سازنده را تغییر داد. پس از سپری شدن مدت زمان لازم و خاموش کردن دستگاه و بعد از آن که فشار اتاقک اتوکلاو به صفر رسید و دما تا حدود ۶۰°C پایین آمد، با استفاده از دستکش مقاوم به حرارت و محافظ چشم و با ایستادن در کنار اتوکلاو (و نه در جلوی آن) در اتوکلاو را به آرامی باز کنید. ۲۰ دقیقه منتظر بمانید تا ظروف کمی‌خنک شوند. مواد را به آرامی حمل کنید تا از بیرون ریختن مایعات داغ جلوگیری شود.

- **سترون سازی پسماندهای آلوده**

در ابتدا باید مواد آلوده را جدا نموده و در کیسه‌هایی که قابلیت اتوکلاو شدن دارند، قرارداد و بر روی آن‌ها برچسب خطر زیستی (Biohazard) نصب نمود. قبل از اتوکلاو نمودن، برای اطمینان از نفوذ بخار به همه قسمت‌های کیسه یا باید گره آن را شل کرد یا یک پیمانه (حدود ۰/۳ لیتر) آب، قبل از محکم کردن گره به آن اضافه کرد. برای جلوگیری از مسدود کردن آب‌گذر اتاقک اتوکلاو با آگار مذاب، باید این کیسه‌ها را در سطل یا ظروف دیگر قرار داد. بیش‌تر از سه چهارم کیسه‌ها را پر نکنید. برای سترون نمودن پسماند فشار ۱۵ پوند در دمای ۱۲۱°Cبه مدت ۶۰ دقیقه مناسب است، هم‌چنین می‌توان از دمای ۱۳۴°C به مدت ۴۵ دقیقه استفاده نمود. اجازه دهید تا آگار ذوب شده، سفت شود و سپس آن را به صورت پسماند طبیعی دور بریزید.

- **سترون سازی مواد خشک بسته بندی شده**

کیسه‌ها را به گونه‌ای در اتوکلاو قرار دهید که حداکثر چرخش بخار را در بین آن‌ها ایجاد کند و نیز با دیواره‌های اتاقک اتوکلاو تماسی نداشته باشد. باید از زمان ۲۵ دقیقه در دمای ۱۲۱°C با خروج سریع بخار یا زمان ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱°C بدون خروج بخار استفاده کرد.

نحوه نگه‌داری

* **به طور روزانه:** صفحه کف اتوکلاو را از بدنه اتاقک جدا نموده و کاملا تمیز کنید. لوازم فرعی مثل طبقات، Rackها و سینی‌ها را با آب و صابون بشویید. درپوش چاهک (Plug Screen) را تمیز کنید. قبل از کار، سطح آب ژنراتور را کنترل کنید. نمایشگر ثبت حرارت و فشار را امتحان کنید.
* **به طور هفتگی:** آب‌گذر و درزها را تمیز کنید. سوپاپ اطمینان را بررسی کنید.
* **به طور ماهانه:** قالب ثبت کننده یا نمایشگر (Recorder Pan) را تمیز کنید. هر ماه آب را تعویض کنید.
* **در صورت نیاز (حداقل هر سه ماه):** داخل و خارج دستگاه را تمیز کنید. قسمت بیرونی آب‌گذر را (که آب زائد از آنجا خارج می‌شود) تمیز کنید. لاستیک دور درب اتوکلاو را بررسی و در صورت نیاز تعویض نمایید.
* **هر شش ماه:** نگه‌داری، معاینه و بازرسی تکنیکی دستگاه توسط شرکت پشتیبان انجام پذیرد.

مشکلات پیش‌آمده در زمان کار با اتوکلاو و راه‌حل آنها درجدول ۱-۱ نشان داده شده است.

جدول ۱-۱: تحلیل مشکلات کار با اتوکلاو

مشکل	علل ممکن	راه حل
۱- در اتوکلاو با آن که کاملا بسته شده، اما قفل نمی‌شود.	a) جسمی مانع بستن در است. b) کابل‌ها خیلی شل هستند c) قفل، خارج از تنظیم است.	a) جسم را درآورید b) کابل‌ها را تنظیم کنید. c) قفل را تنظیم کنید.
۲- موتور ثبت کننده (حرارت،دما) فعال نیست.	a) فیوز کنترل جریان برق پریده است. b) موتور ثبت کننده معیوب است.	a) فیوز را بزنید. b) موتور را تعویض کنید.
۳- جداره بیرونی (Jacket) گرم نمی‌شود.	a) منبع تامین‌کننده بخار و دریچه‌های قطع کننده (Shut off Valves) باز نیستند. b) صافی مسدود شده است. c) دریچه رگولاتور کار نمی‌کند.	a) دریچه‌ها را باز نموده، تمیز یا تعمیر کنید. b) صافی را تمیزکنید. c) رگولاتور را تنظیم یا تمیز کنید.
۴- بخار، فشار کافی ایجاد نمی‌کند.	a) رگولاتور فشار، کار نمی‌کند. b) دریچه (trap) بخار اتاقک عمل نمی‌کند. c) لاستیک دور در نشت می‌کند.	a) رگولاتور را تمیز یا تعمیر کنید. b) دریچه را تمیز یا تعمیرکنید. c) لاستیک دور در را تمیز و یا تعویض کنید.

برای اطلاعات بیشتر به راهنمای دستگاه مراجعه کنید و یا با شرکت پشتیبان تماس حاصل کنید.

کنترل کیفی

- **استفاده از نشانگر شیمیایی و چسب اتوکلاو**

استفاده از چسب اتوکلاو و نشانگر (اندیکاتور) شیمیایی در هر بار استفاده از اتوکلاو الزامی است. معمولا از دو نوع نشانگر شیمیایی استفاده می‌شود:

- **نوار TST (Time ،Steam ،Temprature)**

که بر سه عامل زمان، بخار و دما نظارت می‌کند.

- **برچسب Steri-Record**

امکان ثبت تاریخ سترون سازی، تاریخ انقضاء، سری ساخت، نام فرد سترون کننده و نام محیط کشت بر روی این برچسب وجود دارد.

برای ثبت کردن نام محیط کشت از علایم اختصاری استفاده کرده و نیز برای ثبت کردن نام فرد سترون کننده به او شماره (کد) بدهید. در صورت استفاده از این برچسب نیاز به استفاده از نوار TST همچنان باقی است.

- **اندیکاتور بیولوژیک**

استفاده از نشانگر بیولوژیک به‌طور هفتگی و بر حسب روزهای کاری استفاده از اتوکلاو توصیه می‌شود.

باید از اندیکاتور بیولوژیک شامل ویال حاوی $۱۰^{۶}$ اسپور *ژئوباسیلوس استئاروترموفیلوس* (*Geobacillus Stearothermophilus* ATCC 7953) استفاده و صحت دماسنج را کنترل نمود. این ویال حاوی کپسول شیشه‌ای محتوی محیط کشت مایع و اندیکاتور pH و کاغذ آغشته به اسپور باسیلوس است. پس از خروج ویال بیولوژیک از اتوکلاو، منتظر بمانید تا خنک شود. سپس کناره‌های ویال پلاستیکی را فشار دهید تا کپسول شیشه‌ای داخل آن شکسته شود و محیط کشت با کاغذ آغشته به اسپور باسیلوس در تماس قرار گیرد. سپس ویال پلاستیکی را به مدت ۲ تا ۳ روز داخل انکوباتور ۵۶±۱°C قرار دهید و هر روز رنگ آن را بررسی نمایید. اگر از بنفش به زرد تغییر رنگ دهد، باکتری در آن رشد کرده و عدم صحت فرآیند استریلیزاسیون را نشان می‌دهد. باید هنگام استفاده از این نشانگر فشار حدود ۱/۵ بار و دما در حد مطلوب باشد.

نکته مهم: چسب اتوکلاو به هیچ وجه جهت کنترل کیفی کاربرد ندارد و فقط نشانه‌ای است از اینکه آیا بسته مورد نظر داخل دستگاه قرار گرفته است یا خیر.

کالیبراسیون

طبق دستورالعمل دستگاه انجام می‌گیرد.

ایمنی

- حتما از دستکش مقاوم به حرارت و محافظ چشم استفاده شود. بعد از آن که فشار اتاقک اتوکلاو به صفر رسید و دما تا حدود ۶۰ درجه سانتی‌گراد پایین آمد، در کنار اتوکلاو (و نه در جلوی در آن) بایستید و آن را به آرامی باز کنید.۲۰ دقیقه منتظر بمانید تا ظروف کمی‌خنک شوند. مواد را به آرامی حمل کنید تا از بیرون ریختن مایعات داغ جلوگیری شود.
- هیچ‌گاه در هنگام روشن بودن دستگاه اقدام به بارگذاری یا خارج نمودن وسایل ننمایید، همیشه ابتدا دستگاه را خاموش نموده و سپس اقدام به گذاردن و یا برداشتن وسایل نمایید.
- هیچ‌گاه در هنگام روشن بودن دستگاه و اتصال آن به پریز برق اقدام به تمیز نمودن دستگاه نکنید. در صورت سهل‌انگاری و ریختن آب یا مواد مشابه بر روی تابلوی برق (در اتوکلاوهای برقی) دستگاه را فورا از پریز برق جدا نموده و سپس اقدام به خشک کردن روی تابلو نمایید و بعد آن را بدون استفاده رها کرده تا مواد ریخته شده کاملا خشک گردد.
- هیچ‌گاه پیچ‌های محکم کننده در را در هنگام کار دستگاه شل یا سفت ننمایید.

دستورالعمل فنی انکوباتور (گرمخانه)

کلیات

انکوباتور برای نگه‌داری سوسپانسیون یا محیط‌های کشت حاوی میکروب یا آزمایش‌های آزمایشگاهی در حرارت خاص استفاده می‌گردد.

چگونگی کاربری

انکوباتور محفظه عایق‌بندی شده‌ای است که برای نگه‌داری دما و رطوبت تنظیم شده محیط برای رشد میکروارگانیسم‌ها مورد نیاز است. بعضی انکوباتورها قابلیت تامین میزان دلخواه از CO_2 برای میکروارگانیسم‌هایی که دی اکسیدکربن دوست (Capnophilic) هستند، را دارند.

الف - انکوباتورهای بدون CO_2:

- تنظیم کننده دما را روی دمای مورد نظر قرار دهید.
- وقتی درجه حرارت به دمای مورد نظر رسید، دما را در هر روز استفاده روی برگه کنترل کیفیت (QC) ثبت کنید.
- نمونه‌ها را به طور ایمن روی سینی‌ها یا قفسه‌ها قرار دهید.
- می‌توانید با قراردادن یک تشتک پر از آب متناسب با اندازه اتاقک در کف انکوباتور، محیط مرطوب ایجاد نمایید.

ب – انکوباتورهای CO_2 دار:

- سطح دما و CO_2 در برگه QC در هر روز استفاده ثبت می‌شوند.
- در صورت اتمام سیلندر گاز CO_2، تا زمان شارژ مجدد آن می‌توان جهت نگه‌داری نمونه‌های نیازمند CO_2، از محفظه حاوی شمع (candle jar) به‌صورت جایگزین استفاده نمود.

نحوه نگه‌داری

* همه انکوباتورها باید به‌طور ماهانه با محلول صابون ملایم، تمیز و در صورت لزوم ضد عفونی شوند.
* به منظور رعایت موارد ایمنی، کپسول‌های CO_2 باید به‌صورت ایستاده با زنجیر سنگین به دیوار محکم بسته شوند. زمانی‌که از سیلندرها استفاده نمی‌شود، سوپاپ‌ها و درپوش‌ها باید محکم بسته شوند. سیلندرهای خالی را با زنجیر روی حمل کننده سیلندر محکم ببندید. هرگز سیلندرهای گاز را در دمای بالاتر از (۵۲°C) ۱۲۵°F نگه‌داری نکنید. سیلندرها را در وضعیت افقی قرار ندهید.

کنترل کیفی

- حرارت انکوباتور با دماسنج کالیبره، اندازه‌گیری و به‌طور روزانه و در دو نوبت بر روی منحنی حرارت ثبت می‌گردد.
- تمام عملیات نگه‌داری، تمیزکردن، تعویض سیلندر و حرارت روزانه باید در جداول مربوطه ثبت گردد.
- در انکوباتورهای CO_2 دار یک کشت از نایسریا گونوره را در انکوباتور قرار دهید. هر روز آن را پاساژ داده و رشدش را بررسی نمایید. این ارگانیسم برای رشد کاملا به CO_2 نیاز دارد.

ایمنی

- زمانی‌که دمای انکوباتور خارج از محدوده قابل قبول برای واحد مورد نظر باشد، باید به مسئول فنی یا سوپروایزر اطلاع داده شود.
- اقدامات اصلاحی باید مطابق موارد ذیل انجام شود:
  - منبع برق، پریز برق و کلیدهای روشن/ خاموش را بررسی کنید.
  - دمای تنظیمی (Set Point) را بررسی کنید.
  - اگر دستگاه هنوز درست کار نمی‌کند، به شرکت پشتیبان اطلاع دهید.

دستورالعمل فنی بن ماری

کلیات

از بن‌ماری برای تامین حرارت‌های ۲۵، ۳۰، ۳۷، ۴۲، ۵۶، ۶۳، ۸۰ و ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد بنا به نیاز استفاده می‌گردد.

چگونگی کاربری

بعد از اطمینان از مناسب بودن سطح آب موجود در بن ماری، درجه حرارت مورد نظر را انتخاب نمایید.

سطح آب بن ماری باید بالاتر از سطح مایعاتی باشد که در آن گذارده می‌شوند.

هنگام قرار دادن ظروف و لوله‌های درباز، درپوش بن ماری باید باز بماند تا از ریختن بخار تقطیر شده به درون لوله‌ها جلوگیری شود.

نحوه نگه‌داری

* آب بن ماری باید به‌طور مرتب تعویض شود.
* برای جلوگیری از رسوب املاح در بن ماری باید از آب مقطر استفاده نمود.
* اگر بن ماری رسوب داشته باشد، آن را با اسید رقیق (محلول اسیدکلریدریک دو نرمال) شست‌وشو داده و سپس سریع و به‌طور کامل با آب بشویید.
* اگر بن ماری خشک شود، بیش از حد داغ می‌شود و به آن آسیب می‌رسد، پس باید از خشک شدن آن جلوگیری به‌عمل آورد.

کنترل کیفی

کنترل روزانه دمای آب بن ماری، در چهار گوشه دستگاه و به وسیله دماسنجی غیر از دماسنج متصل به آن انجام می‌شود (صحت دماسنج کنترلی باید در مقابل یک دماسنج کالیبره، تصدیق شده باشد).

دمای خوانده شده در طی روزهای متوالی را باید بر روی منحنی کنترل کیفی دما ثبت نموده و براساس نتایج حاصله، تصمیم‌گیری نمود.

برای بسیاری از آزمایش‌ها، به‌ویژه آزمایش‌های کینتیک (مانند آزمایش‌های آنزیمی) تغییر یک درجه سانتی‌گراد باعث ۱۰٪ تغییر در فعالیت آنزیم می‌شود. برای چنین آزمایش‌هایی ۰/۱± درجه سانتی‌گراد قابل چشم پوشی است.

برای آزمایش‌های End Point، ۰/۵± درجه سانتی‌گراد اختلاف از دمای مطلوب قابل اغماض است.

کالیبراسیون

بر اساس توصیه دستگاه و نتایج کنترل کیفی در صورت عدم صحت یا دقت، دستگاه به شرکت پشتیبان ارسال می‌گردد.

ایمنی

اگر بن ماری خشک شود، بیش از حد داغ شده و به آن آسیب می‌رسد. پس باید از خشک شدن آن جلوگیری شود.

دستورالعمل فنی اجاق کوره (فور - اُوِن)

کلیات

از فور عمدتا برای خشک کردن لوازم آزمایشگاهی یا سترون‌کردن آن به روش حرارت خشک استفاده می‌شود.

چگونگی کاربری

اون برای سترون کردن موادی که با اطمینان کافی تحت نفوذ بخار قرار نمی‌گیرند، اما می‌توانند دماهای بالای مورد نیاز (۱۶۰-۱۸۰°C) را تحمل کنند، به‌کار می‌رود. این میزان حرارت برای سترون کردن ظروف شیشه‌ای مثل لوله‌های آزمایش، ظروف پتری شیشه‌ای، فلاسک‌ها، پی‌پت‌ها و نیز برای آلات فلزی مثل پنس، اسکالپل و قیچی به‌کار می‌رود.

برای بسته‌بندی این وسایل می‌توان از فویل آلومینیومی یا کاغذ کرافت و سربطری‌های پنبه‌ای استفاده کرد. البته کاغذ و پنبه کمی می‌سوزند و این نیم سوزهای پنبه (cotton wool)، ممکن است مواد باکتری‌کش فراری متصاعد کنند.

- درپوش لوله‌های آزمایش شیشه‌ای را با کلاهک‌هایی از جنس فویل آلومینیومی بپوشانید و آن‌ها را به‌طور عمود در جا لوله‌ای فلزی قرار دهید. درپوش، لبه لوله‌ها را از آلودگی موجود در هوا در طی ذخیره سازی بعدی حفظ می‌کند.
- انتهای فوقانی پی‌پت‌ها را تا عمقی حدود دو سانتی‌متر با پنبه‌های غیر جاذب ببندید و آن‌ها را در ظروف فلزی قرار داده، در ظرف را ببندید. اگر پی‌پت‌ها فقط به‌طور موردی مورد نیاز هستند، می‌توانید آن‌ها را فقط در کاغذ Kraft بسته‌بندی کنید.
- بطری‌های درپیچ‌دار را در صورتی می‌توان در اون یا هوای داغ سترون نمود که درپوش‌ها و آستری (لایه داخلی) آن‌ها از موادی مثل فلز، تفلون، پلی پروپیلن یا لاستیک سیلیکون ساخته شده باشند که در دماهای سترون سازی از شکل طبیعی خارج نمی‌شوند.
- قبل از قرار دادن ظروف شیشه‌ای در اون، مطمئن شوید که ظروف کاملا خشک هستند. توصیه می‌شود که ابتدا آن‌ها را در حرارت ۱۰۰°C قرار دهید.
- پودرها، روغن‌ها و گریس‌ها را در ظروف شیشه‌ای یا فلزی عایق‌بندی شده (با بسته‌بندی محکم و چسب کاری شده) و در اندازه‌های کوچکی که از وزن ده گرم یا عمق یک سانتی‌متر تجاوز نکنند سترون نمایید.
- مواد یا بسته‌ها را به گونه‌ای در اون قرار دهید که هوای داغ بین و دور آن‌ها جریان داشته باشد.
- در اون را ببندید و منبع گرما را روشن کنید.

زمان نگه‌داری سترون سازی از زمانی شروع می‌شود که اتاقک به دمای سترونی انتخابی و حتی دمای بالاتر برسد تا همه قسمت‌های اتاقک و بار داخل آن به دمای موردنظر برسند. دمای سترون سازی ۱۶۰-۱۸۰°C و مدت آن دو تا چهار ساعت است.

به خاطر عایق بودن دستگاه، ممکن است چند ساعت طول بکشد تا اشیا داخل آن خنک شوند. اما اگر اون دارای فن خنک کننده باشد، مرحله خنک کردن تسریع می‌شود.

- در اون را تا وقتی اتاقک و بار داخل آن (ظروف و مواد) به دمای پایین‌تر از ۶۰°C نرسیده است، باز نکنید. اگر هوای سرد به‌طور ناگهانی وارد دستگاه شود، ممکن است ظروف شیشه‌ای ترک بخورند، چون هنوز خیلی داغ هستند.
- برای خشک‌کردن وسایل معمولا از دمای کمتر از ۱۰۰°C استفاده می‌گردد.

نحوه نگه‌داری

* **به‌طور ماهانه:** داخل آن تمیز گردد.
* **هر شش ماه یک‌بار**: نگه‌داری و کنترل تکنیکی توسط شرکت پشتیبان صورت پذیرد.

کنترل کیفی

- **استفاده از نشانگر شیمیایی برای هر بار استفاده**

استفاده از اندیکاتور شیمیایی (کپسول شیشه‌ای براون [Browne]) برای هر بار استفاده از فور الزامی است. عملکرد مطلوب دستگاه به صورت تغییر رنگ مناسب (از قرمز به سبز) می‌باشد که بایستی در انتهای هر مرحله بررسی شود.

- **استفاده از نشانگر بیولوژیک به طور هفتگی**

به‌طور هفتگی برحسب روزهای کاری استفاده از اون، از نوار حاوی اسپور *باسیلوس آتروفیوس (سوبتیلیس واریته نایجر)* استفاده کنید. باید بتوان نشان داد که سیکل سترون سازی $۱۰^{۶}$ اسپور *باسیلوس آتروفیوس* (*Bacillus atrophaeus* ATCC 9372) را غیرفعال می‌کند.

برای این کار نوار حاوی اسپور را به همراه وسایل، داخل فور قرار دهید و پس از طی شدن زمان لازم برای استریل شدن وسایل، آنرا خارج نمایید. منتظر بمانید تا خنک شود. سپس با رعایت شرایط آسپتیک، در کنار شعله و با پنس استریل نوار کاغذی را از داخل پوشش آن در آورده و داخل لوله حاوی محیط کشت مایع مغذی (Trypticase Soy Broth (TSB بیاندازید و به مدت ۲ تا ۳ روز داخل انکوباتور ۳۶±۱°C قرار دهید و هر روز ایجاد کدورت را در لوله بررسی نمایید. اگر کدورتی مشاهده شد، آن را بر روی محیط کشت آگار خون‌دار کشت دهید و با انجام آزمایش‌های افتراقی، از وجود این باسیلوس اطمینان حاصل نمایید. در صورت تایید وجود این باسیلوس، عدم صحت فرایند استریلیزاسیون محرز می‌گردد.

D-Value اسپورهای مورد مصرف در حرارت ۱۶۰°C معادل ۱۰-۵ و Z-Value آن‌ها حدود ۲۵ است. D-Value، در یک دمای مشخص، میزان کشتن باکتری را اندازه‌گیری می‌کند و با مدت زمـان مـورد نیاز بـرحسب دقیقه جهت نـابـود شـدن ۹۰٪ ارگـانیسم‌های زنده نشان داده می‌شود. Z-Value معیار اندازه‌گیری مقاومت حرارتی اسپورها بوده که با مقدار حرارت (برحسب درجه سانتی‌گراد) مورد نیاز جهت نابودی ده برابر سریع‌تر اسپورها مشخص می‌شود.

کالیبراسیون

طبق دستورالعمل دستگاه انجام شود.

ایمنی

استفاده از دستکش مقاوم به حرارت و محافظ چشم موقع کار با دستگاه لازم است.

دستورالعمل فنی یخچال

کلیات

از یخچال برای نگه‌داری نمونه‌ها و محلول‌های مختلف در برودت ۸-۲ درجه سانتی‌گراد استفاده می‌گردد. معمولا در اثر رشد میکروب‌ها در نمونه‌ها و محلول‌ها، واکنش‌های شیمیایی صورت می‌پذیرد که سرد کردن و انجماد، این واکنش را به تاخیر می‌اندازد.

چگونگی کاربری

یخچال باید در سطح کاملا افقی و در سردترین قسمت ساختمان به دور از گرما و آفتاب قرار گیرد و طوری در کنار وسایل اطراف باشد که فضای کافی در پشت و دو طرف وجود داشته باشد تا هوا کاملا از پشت و اطراف آن جریان پیدا کند.

درب یخچال باید پس از هر بار استفاده کاملا بسته شود. دمای آن باید تقریبا ۴°C (بین ۸°C-۲) باشد. دمای قابل قبول برای فرآورده‌های خونی ۶°C-۱ است.

جهت کنترل دما باید از دماسنج مایع در شیشه (صفحه ۲۱) استفاده نمود. چیدمان مواد داخل یخچال باید به نحوی باشد که کیت‌ها با کمی فاصله از یکدیگر و از دیواره جانبی قرار گیرند.

نحوه نگه‌داری

* **نگه‌داری مقطعی و هفتگی:**
  - در صورت وجود آب در کف یخچال باید تمیز شود.
  - در صورت آلودگی درون یخچال با مایعات بیولوژیک باید با محلول سفید کننده ۱۰٪ ضدعفونی و تمیز شود.
  - یخچال از بیرون نیز تمیز شود.
* **نگه‌داری ماهانه:**
  - یخچال باید به صورت ماهانه تمیز شود و یخ آن ذوب شود. در صورتی‌که ضخامت یخ به ۱۰mm-۶ برسد باید قبل از زمان مذکور یخ ذوب گردد.
  - توصیه می‌شود تمامی عملیات نگهداری، تعمیرات، نظافت، ضدعفونی، آب کردن برفک با ذکر تاریخ برای همه یخچال‌ها ثبت گردد.
  - غبار روی سرد کننده یا مبرد تمیز شود.
  - لاستیک دور درب یخچال بررسی شود.

کنترل کیفی

برای کنترل دما باید از دماسنج مناسب که صحت عملکرد آن در مقابل دماسنج کالیبره تصدیق گردیده، استفاده نمود و با استفاده از کاغذهای مخصوص رسم نمودار یا برنامه‌های نرم‌افزاری دمای روزانه یخچال هر روز در دو نوبت اندازه‌گیری شده و در منحنی کنترل دما وارد گردد. در صورتی‌که طی چند روز دمای آن خارج از محدوده مجاز (۲-۸°C) باشد، با تعمیر کار مجاز تماس گرفته شود. علاوه بر این دمای درب یخچال نیز باید کنترل شود.

بهتر است از دماسنج‌های می‌نیمم – ماگزیمم استفاده شود که تغییرات حرارت یخچال در طول روز را نشان می‌دهد.

ایمنی

استفاده از تنظیم کننده نوسانات برق توصیه می‌گردد. لازم به ذکر است که در صورت قطع برق یا خرابی یخچال، دمای یخچال به مدت دو ساعت حفظ می‌شود و در صورت عدم استفاده از برق اضطراری، مسئولان آزمایشگاه باید تمهیدات لازم را در صورت افزایش زمان قطع برق به‌کار گیرند.

دستورالعمل فنی فریزر (منجمدگر)

کلیات

در اکثر آزمایشگاه‌های بالینی وجود فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای نگه‌داری نمونه‌های ناپایدار هم‌چون Fresh Frozen Plasma (FFP) و کرایو، دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی بتا-لاکتام، آنتی‌بادی‌های مونوکلونال و پلی‌کلونال و آنتی سرم‌ها ضروری است. با این‌حال در آزمایشگاه‌هایی که اقدام به انجام آزمایش‌های مولکولی می‌نمایند، فریزر۷۰- درجه سانتی‌گراد مورد نیاز است.

چگونگی کاربری

مطابق با مندرجات کتابچه راهنمای کارخانه سازنده تجهیز به کار گرفته می‌شود.

نحوه نگه‌داری

تقریبا مشابه یخچال است.

کنترل کیفی

مشابه یخچال است با این تفاوت که دماسنج مورد استفاده، دماسنج مخصوصی است که در بشر محتوی ضد یخ قرار می‌گیرد و صحت آن با دماسنج کالیبره، تصدیق گردیده است.

ایمنی

مشابه یخچال است.

دستورالعمل فنی دماسنج (ترمومتر)

کلیات

دماسنج برای کنترل حرارت محیط آزمایشگاه و تجهیزات حرارتی و برودتی مانند یخچال، فریزر، حمام آب بافتی، فور، اتوکلاو، انکوباتور و غیره کاربرد دارد. دماسنج کاربردهای دیگری نیز در اسمومتری، کنترل سانتریفیوژهای یخچال‌دار، محل قرارگیری محلول‌ها در اتوآنالایزرهای خودکار یخچال‌دار، قسمت گرم کننده آنالایزرهای خودکار، حمام آب در گردش و قسمت کووت‌های آنالایزرهای خودکار دارد. در تمام موارد فوق هدف از استفاده از دماسنج، کنترل حرارت و اندازه‌گیری صحیح برای اطمینان از حفظ یک دمای ثابت است.

هر تجهیزی که وسیله‌ای برای کنترل دما دارد باید یک روش کنترل کیفی مناسب و رایج نیز داشته باشد و همه وسایل حساس به دما که دما را ثبت نمی‌کنند، باید با نوع مناسب جایگزین شوند. در اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی که با دخالت آنزیم‌ها انجام می‌شوند، کنترل دما باید به دقت انجام گیرد زیرا دما به میزان قابل توجهی بر سرعت واکنش آنزیماتیک تاثیرگذار است.

انواع دماسنج

- **دماسنج بالینی (طبی)**: برای اندازه‌گیری حرارت بدن انسان کاربرد دارد و دارای انواع گوناگونی مانند دماسنج‌های دهانی، مقعدی و دماسنج مادون قرمز پرده صماخی است. نوع آخر در داخل مجرای گوش خارجی قرار می‌گیرد و از طریق تشعشعات مادون قرمز صادره از پرده صماخ، دمای بدن را می‌سنجد.
- **دماسنج ثبت‌کننده**: دماسنج مکانیکی یا الکتریکی است که با استفاده از یک یا چند حسگر حساس تغییرات دما را در طول زمان ثبت می‌کنند. دمای اندازه‌گیری شده بر روی کاغذ رسام حرارت یا در حافظه الکترونیکی دماسنج ثبت می‌گردد. با خارج شدن دما از دامنه تنظیم، زنگ دستگاه به علامت هشدار به کار می‌افتد.
- **دماسنج مقاومتی (ترموکوپل)**: این دماسنج از مقاومت الکتریکی برای مشخص کردن دما استفاده می‌کند و حاوی وسیله‌ای حساس متشکل از دو نوع فلز غیرمشابه بوده که از یک انتها به یکدیگر متصل شده‌اند. دماسنج مقاومتی، انواع و طرح‌های مختلفی دارد.

  یک واقعیت مهم، پاسخ‌دهی سریع آن است و به همین دلیل در آنالایزرهای آزمایشگاهی کاربرد دارد. در واقع دماسنج مقاومتی گرمایی یک نوع مبدل است که باعث تبدیل حرارت یا گرما به مقاومت می‌شود. در این نوع دماسنج از مخلوط به هم چسبیده اکسیدهای فلزات با ضریب حرارتی منفی در برابر مقاومت استفاده می‌شود. لذا کوچک‌ترین کاهش در حرارت باعث تغییرات زیاد در مقاومت می‌شود.

انواع دماسنج با توجه به نوع مقیاس:

- دماسنج سلسیوس از مقیاس سلسیوس استفاده می‌کند. در این مقیاس نقطه انجماد آب در صفر درجه سانتی‌گراد و نقطه جوش طبیعی آب در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد است.
- دماسنج سانتی‌گراد نوعی از دماسنج است که دارای فواصلی بین دو نقطه مرجع مشخص در دماسنج سلسیوس بوده و این فاصله به ۱۰۰ واحد تقسیم می‌شود. مقیاس این دماسنج نیز سلسیوس می‌باشد.
- دماسنج فارنهایت از مقیاس فارنهایت استفاده می‌کند. در این مقیاس نقطه انجماد آب در ۳۲ درجه فارنهایت و نقطه جوش آب در ۲۱۲ درجه فارنهایت است. برای تبدیل درجه فارنهایت به سانتی‌گراد از فرمول زیر استفاده می‌شود:

۰/۵۵× (۳۲-درجه فارنهایت)= درجه سانتی‌گراد

- دماسنج کلوین از مقیاس کلوین استفاده می‌کند.

چگونگی کاربری

دماسنج‌های موجود شامل سه نوع دماسنج الکلی، دماسنج جیوه‌ای و دماسنج الکتریکی هستند.

دماسنج الکتریکی بسیار دقیق و حساس است. معمولا در آزمایشگاه‌ها اغلب از دماسنج جیوه‌ای استفاده می‌شود.

دماسنج‌هایی که به‌صورت مایع در شیشه هستند (مانند الکل یا جیوه با خواص فیزیکی که در برابر حرارت تغییر می‌کند) در آزمایشگاه بالینی کاربرد وسیعی دارند و دو نوع هستند:

۱) نوع شناورسازی کامل ۲) نوع شناورسازی نسبی.

در نوع اول مانند انواع مورد استفاده در اندازه‌گیری دمای فریزر و یخچال، باید حباب و ستون کامل مایع در داخل محیط قرار داده شوند. نوع دوم دارای یک حباب و یک پایه است که باید پایه تا خط شناورسازی مشخص یا عمق مشخص شده‌ای از دماسنج در محیط غوطه‌ور گردد. این نوع اغلب برای کنترل دمای حمام آب و یا محفظه‌های گرم‌کننده کاربرد دارد.

کنترل کیفی

دماسنج‌ها باید در فواصل زمانی مناسب کالیبر شوند. بدین منظور می‌توان نسبت به تهیه دماسنج‌هایی که توسط مراکز معتبر کالیبر گردیده و دارای گواهینامه کالیبراسیون هستند اقدام نمود و یا دماسنج‌های موجود در آزمایشگاه را به شرکت‌هایی که در زمینه کالیبراسیون فعالیت می‌کنند، ارسال کرد تا نسبت به کالیبراسیون آن‌ها اقدام شود. فواصل کالیبراسیون بسته به شرایط کار در هر آزمایشگاه تعیین می‌گردد. به‌طور کلی فاصله زمانی شش ماه تا یک سال برای کالیبراسیون دماسنج پیشنهاد می‌شود.

نحوه نگه‌داری و کالیبراسیون

هدف از کنترل صحت دماسنج، اطمینان از نمایش و ثبت دمای واقعی است. برای این منظور می‌توان از دماسنج‌های استاندارد استفاده کرد. برای کنترل دماسنج‌ها، می‌توان از حمام آب استفاده کرد. باید دماسنج استاندارد و وسیله حسگر ثانویه‌ای که لازم است کالیبر شود، به صورت مناسب داخل حمام مایع غوطه‌ور شوند. حجم مایع در حمام آب باید حداقل ۱۰۰ برابر حجم وسایلی باشد که داخل آن قرار داده می‌شوند تا از اختلال در توزیع یکنواخت دما جلوگیری گردد. حسگرهای ثانویه باید نزدیک دماسنج‌های استاندارد در حمام مایع قرار گیرند. باید زمان کافی برای اطمینان از رسیدن به تعادل حرارتی قبل از اندازه‌گیری داده شود. باید در اطراف حسگر فضای کافی برای جریان مناسب مایع حمام وجود داشته باشد. بعد از ایجاد تعادل حرارتی حداقل تغییرات تا میزان چند صدم درجه سانتی‌گراد قابل تشخیص است. برای خواندن دماسنج استاندارد باید از یک ذره‌بین که به‌صورت عمودی بر روی دماسنج قرار داده می‌شود استفاده کرد. برای خوانش صحیح دماسنج‌های استاندارد و سایر دماسنج‌های مایع در شیشه باید قبل از خوانش ضربه ملایمی به دماسنج وارد کرد تا خطای ناشی از چسبیدن ستون جیوه حذف گردد. در زمانی که با استفاده از دماسنج استاندارد، دمای حمام آب اندازه‌گیری گردید، باید مقادیر حساس حرارتی (برای مثال مقاومت) در دماسنجی که می‌خواهیم آن را دقیقا کالیبرکنیم به‌صورت صحیحی تنظیم گردد. به‌طور کلی برای به‌دست آوردن حداکثر صحت کاری در هنگام کار با دماسنج‌های استاندارد بهتر است به نکات ذیل دقت شود:

- باید دماسنج از نظر ستون جیوه جداکننده یا وجود حبابچه گاز در قسمت حباب کنترل شود.
- به‌صورت دوره‌ای آزمایش نقطه انجماد برای نظارت بر تغییر در حجم حباب انجام گیرد.
- دماسنج‌ها در عمق غوطه‌وری مناسب (۹۵mm) قرار داده شوند.
- در هنگام خوانش حرارت‌هایی که باعث برآمدگی پایه دماسنج می‌شوند باید عملیات اصلاح صورت گیرد و یا در گزارش کالیبراسیون قید گردد.
- باید قبل از خوانش دماسنج به صورت ملایم به آن ضربه زده شود.
- همیشه خوانش با استفاده از یک ذره‌بین صورت گیرد.

ایمنی

به‌علت احتمال شکسته‌شدن دماسنج، بایستی از انتقال دماسنج به محیطی که اختلاف دمایی زیادی با محیط اول دارد خودداری نمود.

به‌علت سمی بودن جیوه و احتمال ایجاد آلودگی شیمیایی در صورت شکستن دماسنج‌های جیوه‌ای در سال‌های اخیر کوشش‌هایی به منظور استفاده از دماسنج‌های جایگزین به شرح زیر به‌عمل آمده است:

- دماسنج محتوی الکل آلی قرمز که با گاز نیتروژن پر شده است.
- دماسنج محتوی مایع قابل حذف بیولوژیک آبی (ایزوآمیل بنزوات و رنگ) (Isoamyl benzoate and dye)
- دماسنج دیجیتال با بدنه استیل ضد زنگ
- دماسنج پر شده با مایع قرمز کروزن (kerosene)

دستورالعمل فنی دستگاه اسپکتروفتومتر (طیف‌سنج)

کلیات

اساس کار اسپکتروفتومتر، اندازه‌گیری شدت نور در طیفی از طول موج است که توسط منشور ایجاد گردیده است. اسپکتروفتومتری نیز به معنی اندازه‌گیری شدت نور در طیف باریکی از طول موج می‌باشد و دستگاه‌هایی که از منشور یا گریتینگ (Grating) برای جدا کردن و انتخاب طول موج استفاده می‌شود، اسپکتروفتومتر نامیده می‌شوند.

چگونگی کاربری

براساس مندرجات کتابچه راهنمای کارخانه سازنده به کار گرفته می‌شود.

نحوه نگه‌داری

سرویس سالانه توسط شرکت پشتیبان دستگاه صورت می‌گیرد. به طور کلی در این خصوص بایستی به تنظیم آینه و تمیز کردن آن، تعویض لامپ (براساس طول عمر آن) و شست‌وشوی کووت توجه نمود.

کنترل کیفی

کنترل کیفی اسپکتروفتومتر شامل صحت طول موج، خطی‌بودن (Linearity)، صحت فتومتریک، تعویض لامپ، تست رانش فتومتری (آزمون پایداری نسبت به زمان)، کنترل یکسانی کووت‌ها و کنترل پهنای نوار طیفی Spectral Band Width (SBW) است.

- **صحت طول موج**

ارزیابی صحت طول موج به منظور اثبات ادعای سازنده سامانه در تاباندن طول موجی است که دستگاه برای آن کالیبر گردیده‌است.

بررسی صحت طول موج از طریق جایگزینی منبع نوری معمولی اسپکتروفتومتر با منبع نوری دارای حداکثر تابش (مثل لامپ جیوه یا دوتریوم) یا استفاده از فیلترهای شیشه‌ای یا از طریق محلول‌های رنگی به شرح زیر است:

۱- محلول دی‌کرومات پتاسیم ۵۰ mg/L در اسیدسولفوریک ۰/۰۱ نرمال که دارای بیشینه جذب نوری در ۲۵۷ و ۳۵۰ نانومتر است.

۲- محلول پارانیتروفنل ۰/۰۴ mmol/L در سود ۰/۰۱ نرمال که دارای بیشینه جذب نوری در ۴۰۱ نانومتر است.

۳- محلول سولفات آمونیوم کبالت ۰/۰۷۳۵ mmol/Lدر اسیدسولفوریک ۰/۱۸M که دارای بیشینه جذب نوری در ۵۶۲ نانومتر است.

۴- محلول سیان متهموگلوبین (۲۰ میکرولیترخون و 5ml درابکین) که دارای بیشینه جذب نوری در ۵۴۰ نانومتر است.

۵- محلول اکسی هموگلوبین (V/V ۵٪ محلول آمونیاک در آب+ خون) که دارای بیشینه جذب نوری در ۵۴۰ و ۵۷۶ نانومتر است.

کنترل طول موج هر سه تا شش ماه یک‌بار یا پس از هر تغییر و تعمیر بر روی دستگاه صورت می‌گیرد. هم‌چنین بنا به ضرورت استفاده از یک یا چند نوع محلول فوق پیشنهاد می‌گردد.

- **آزمون خطی بودن**

خطی‌بودن عبارت است از قدرت اسپکتروفتومتر برای ثبت یک سیگنال متناسب با مقدار نور جذب شده یا نور عبور کرده. خطی بودن را باید با استفاده از رقت‌های مختلف محلول‌هایی نظیر دی‌کرومات پتاسیم در طول موج ۳۴۰ نانومتر، پارانیتروفنل (محلول ۰/۰۴ mmol/L) در طول موج ۴۰۵ نانومتر، محلول سولفات مس در طول موج ۶۵۰ نانومتر، محلول سولفات آمونیوم کبالت در طول موج ۵۱۲ نانومتر، محلول سیان متهموگلوبین در طول موج ۵۴۰ نانومتر، محلول سبز خوراکی در طول موج ۶۳۰ نانومتر و سولفات نیکل در طول موج۵۵۰ نانومتر با رسم نمودار غلظت در مقابل جذب نوری مشخص نمود و پس از آن خطی بودن و میزان شیب (slope) را برای هر رقت محاسبه کرد. عدم خطی بودن نشانه خرابی دستگاه یا اشتباه در تهیه رقت است. خطی‌بودن اسپکتروفتومتر باید در فواصل منظم و پس از هر تغییر یا تعمیر دستگاه صورت پذیرد.

روش انجام کار آزمون خطی بودن به کمک محلول دی کرومات پتاسیم در طول موج ۳۴۰ ناتومتر:
ابتدا پودر دی‌کرومات پتاسیم را در حرارت ۱۱۰°C در فور خشک نمایید. سپس ۲۰۰ mg (یا ۱۰۰ mg) از آنرا با اسید سولفوریک ۰/۰۱ نرمال به یک لیتر برسانید. از این محلول ذخیره غلظت‌های سریال از ۱۰ تا ۲۰۰ (یا ۱۰ تا ۱۰۰) میلی‌گرم در cc ۱۰۰۰ اسیدسولفوریک ۰/۰۱ نرمال تهیه کنید. OD هر غلظت را در مقابل بلانک اسیدسولفوریک در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت کنید (OD مشاهده شده یا به دست آمده).

سپس بر اساس OD مشاهده شده و با مبنا قراردادن جذب نوری به‌دست آمده در محدوده ۰/۴ (که بهترین جذب نوری در دستگاه اسپکتروفتومتر است) و با استفاده از تناسب یا فرمول زیر جذب نوری مورد انتظار در هر غلظت را به‌دست آورید.

$$\text{OD مورد انتظار در هر غلظت} = \frac{\text{غلظت مورد نظر} \times \text{OD مبنا}}{\text{غلظت در OD مبنا}}$$

سپس با استفاده از فرمول‌های زیر مقدار Bias و Slope را در هر غلظت به‌دست آورید.

$$\%\text{Bias} = \frac{\text{OD به دست آمده} - \text{OD مورد انتظار}}{\text{OD مورد انتظار}} \times ۱۰۰$$

$$\text{Slope} = \frac{\text{OD بدست آمده در هر غلظت} - \text{OD مبنا}}{\text{OD مورد انتظار} - \text{OD مبنا}}$$

اگر مقادیر Slope به‌دست آمده در محدوده ۱/۰۲- ۰/۹۹۸ و Bias به‌دست آمده در هر غلظت زیر ۵٪ باشد، خطی بودن دستگاه مورد تایید است.

مثال ۱-۱: با توجه به توضیحات فوق نتایج یک آزمایش عملی در جدول ۲-۱ ارائه شده است. OD های مورد انتظار و مقادیر Slope و Bias در هر غلظت به شرح زیر به‌دست می‌آید:

جدول ۲-۱ میزان عدم صحت و جذب نوری محلول دی کرومات پتاسیم در رقت‌های مختلف در مثال ۱-۱

غلظت محلول دی کرومات پتاسیم mg/L	جذب نوری به‌دست آمده	جذب نوری مورد انتظار	Slope	Bias %
۱۰	۰/۱۰۶	۰/۱۱	۱/۰۱	۳/۶
۲۰	۰/۲۱۹	۰/۲۲	۱/۰۰۵	۰/۵
۳۰	۰/۳۲۹	۰/۳۳	۱/۰۱	۰/۳
۴۰	۰/۴۴۰	-	-	-
۵۰	۰/۵۵	۰/۵۵	۱	۰
۶۰	۰/۶۶۵	۰/۶۶	۱/۰۲	۰/۷
۷۰	۰/۷۷۲	۰/۷۷	۱/۰۰۶	۰/۲۵
۸۰	۰/۸۷۶	۰/۸۸	۰/۹۹	۰/۴
۹۰	۰/۹۹۱	۰/۹۹	۱/۰۰۱	۰/۱
۱۰۰	۱/۰۹۷	۱/۱	۰/۹۹۵	۰/۲

به عنوان مثال جذب نوری مورد انتظار، مقادیر Bias و Slope در غلظت ۱۰mg/L به شرح زیر به‌دست می‌آید:

OD مورد انتظار در غلظت ۱۰mg/L = ۰/۴۴ ×۱۰ / ۴۰ =۰/۱۱

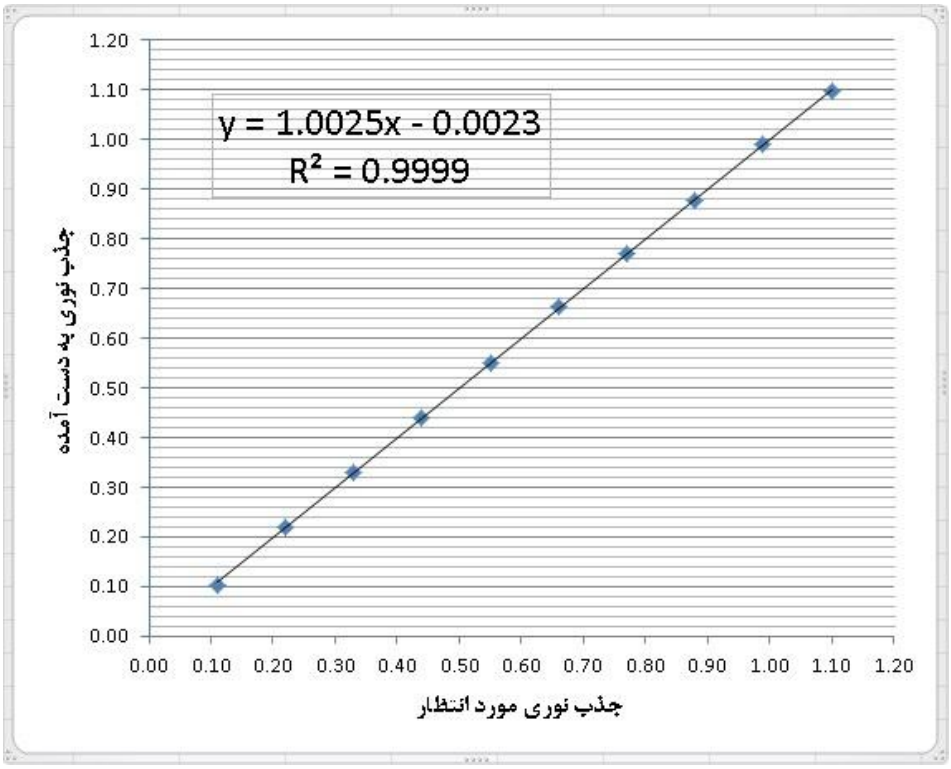
میزان Bias (٪) در غلظت ۱۰mg/L = (۰/۱۱-۰/۱۰۶) / ۰/۱۱ = ٪۳/۶

میزان Slope در غلظت ۱۰mg/L = (۰/۴۴ -۰/۱۰۶) / (۰/۴۴ -۰/۱۱) = ۱/۰۱

حالا به همین ترتیب مقادیر OD مورد انتظار Slope و Bias را در تمامی غلظت‌ها به دست آورید.

همانطور که در بالا بیان گردید Slope به‌دست آمده در این روش Slope نقطه‌ای می‌باشد، ولی بهتر است مشابه آزمون خطی بودن در دستگاه اتوآنالایزر Slope و Intercept خط را به‌دست آورد که امکان تفسیر دقیق‌تر برای آزمون خطی بودن را فراهم می‌آورد.

نتایـج حاصل از مثال ۱-۱ توسط نرم‌افزار Excel رسم شده که در نمودار ۱-۱ نشان داده می‌شود.



نمودار ۱-۱ : نمودار آزمون خطی بودن نتایج حاصل از مثال ۱-۱

برای مطالعه بیشتر به مبحث آزمون خطی بودن در دستورالعمل فنی اتوآنالایزر مراجعه شود.

- **صحت فتومتریک**

منظور از صحت فتومتریک این است که آیا حداکثر جذب نوری به مقدار مشخص در طول موج خاص صورت می‌گیرد یا خیر؟ صحت فتومتریک به توانایی لامپ در ارایه حداکثر تابش، SBW، نوع و کیفیت منوکروماتور بستگی دارد.

می‌توان یکی از موارد زیر را در این خصوص به‌کار برد:

۱- محلول دی‌کرومات پتاسیم (۵۰mg/L) در اسیدسولفوریک ۰/۰۱ نرمال باید در طول موج ۳۵۰ نانومتر، جذب نوری معادل ۰/۰۰۵ ± ۰/۵۳۶ در مقابل بلانک اسیدسولفوریک ۰/۰۱ نرمال داشته باشد.

۲- از محلول‌های تجاری آماده از جمله precist Bm در طول موج ۴۰۵ نانومتر نیز می‌توان استفاده کرد.

- **تعویض لامپ**

در صورت ناپایداری میزان جذب نوری با در نظر گرفتن طول عمر لامپ باید آن را تعویض کرد.

پس از تعویض لامپ به هر علتی باید سامانه نوری دستگاه به نحوی کالیبر گردد تا حداکثر میزان نور پس از عبور از کووت به فتوسل برسد. تعیین بهترین موقعیت برای استقرار لامپ با پرکردن کووت از آب مقطر و تغییر دادن موقعیت لامپ و دیگر اجزای نوری در محلی که حداکثر عبور نور به‌دست آید، صورت می‌گیرد.

- **کنترل رانش (drift) فتومتریک**

رانش فتومتریک با قراردادن کووت در بسته با کاغذ پارافیلم حاوی محلول سیان متهموگلوبین در دستگاه و قرائت جذب نوری در فواصل هر ۱۵-۵ دقیقه به‌مدت یک ساعت کنترل می‌گردد. البته این آزمایش را می‌توان با کووت خالی یا حاوی آب مقطر نیز انجام داد. وجود رانش نشانگر عدم پایداری میزان جذب نوری یا عبور نور است که می‌تواند به علت فرسودگی منبع نور باشد. در صورت وجود رانش باید دستگاه تعمیر گردد و در غیر این‌صورت باید در فواصل کوتاه معمولا هر ۲۰-۱۰ بار خواندن نمونه با گذاشتن بلانک دستگاه را صفر کرد. حداکثر اختلاف جذب نوری قابل قبول ۰/۰۰۵ ± در طول یک ساعت است.

- **یکسانی کووت‌ها**

هماهنگ بودن کووت‌ها برای آزمایش‌هایی که از منحنی ثابت استفاده می‌کنند مثل هموگلوبین و بیلی‌روبین بسیار مهم است، زیرا هر کووت دارای ضریب جذبی خاص خود است.

به همین دلیل لازم است کووت‌ها میزان جذب نوری یکسانی داشته باشند.

با استفاده از آب مقطر (خواندن جذب نوری در طول موج ۵۵۰ نانومتر) کووت‌هایی کـه بـیش از ۰/۰۱ ± اختلاف جذب داشته باشند کنار گذاشته می‌شوند.

هم‌چنین با استفاده از محلول سیان متهموگلوبین در طول موج ۵۴۰ نانومتر کووت‌هایی که بیش از ۰/۰۱۵ اختلاف عبور نور داشته باشند کنار گذاشته می‌شوند.

توصیه می‌شود اندازه‌گیری بلانک، استاندارد و آزمایش‌ها در صورت امکان بـا یـک کـووت انجـام گیرد تا از این خطا جلوگیری گردد.

- **انوار ناخواسته (Stary Light)**

Stary Light به معنی طول موج‌های ناخواسته در نور خارج شده از منوکروماتور می‌باشد که باعث تداخل و ایجاد خطا در خوانش می‌گردد. وجود انوار ناخواسته را می‌توان با اندازه‌گیری میزان عبـور نور از موادی که در طول موج مشخص دارای جذب نوری صد درصـد و یـا بـه عبـارتی دارای عبـور نوری صفر درصد هستند، تعیین نمود.

- **کنترل Spectral Band Width**

SBW نشانگر میزان خلوص طیـف نـوری خـارج شـده از فیلتـر یـا سـایر مونوکروماتورهـا اسـت و عبارتست از پهنای باند نور عبوری در نقطه‌ای که برابر نصف پیک آن باشد.

کنترل SBW بیشتر در آزمون‌های کینتیک و آنزیمی کاربرد دارد.

برای کنترل SBW می‌توان از لامپ بخار جیوه یا فیلترهای مخصوص استفاده نمود.

ایمنی

- قطع برق دستگاه با خارج کردن کابل آن از پریز، پیش از برداشتن درپوش دستگاه جهت تعویض قطعات یا تنظیم آن
- استفاده از ولتاژ مناسب برحسب محل استفاده از دستگاه
- به منظور پیشگیری از اثرات نوسانات جریان الکتریکی لازم است که:

➢ دستگاه به سیستم تثبیت کننده ولتاژ برق (Voltage Regulator) یا سیستم تامین کننده برق اضطراری (UPS) که دارای تثبیت کننده ولتاژ داخلی می‌باشد متصل گردد.

➢ سیستم برق دستگاه باید دارای سیم اتصال به زمین مناسب (ارت‌دار) باشد.

دستورالعمل فنی فتومتر (نورسنج)

کلیات

فتومتری بـه معنـی انـدازه‌گیـری شـدت نـور در طیـفی خـاص از طـول موج‌ها است که با کمک فیلترهای مستقل نوری، طول موج مورد نظر انتخاب و جدا می‌گردد.

محل خوانش در فتومترها ممکن است کووت‌های پلاستیکی یا شیشه‌ای با قابلیت برداشتن و یا یک کووت شیشه‌ای ثابت به نام فلوسل باشد.

چگونگی کاربری

مطابق با مندرجات کتابچه راهنمای کارخانه سازنده تجهیز به کار گرفته می‌شود.

نحوه نگه‌داری

* به هیچ وجه از الکل و محلول‌های حاوی الکل برای تمیز کردن صفحه نمـایش اسـتفاده نکنیـد چون باعث آسیب آن می‌گردد.
* دستگـاه را بـا پـاک کننده (دتـرژانت) مـلایـم تمیز کنید (مقـدار کـم ایـزوپـروپانول به عنوان ضدعفونی‌کننده دستگاه، به جز قسمت نمایش بسیار مناسب است).
* کووت‌ها را در آب گرم و محلول شست‌وشو دهنده بشویید.
* سرویس دستگاه سالانه توسط سرویس‌کار مجاز انجام شود.

کنترل کیفی

کنترل کیفی این ابزار شامل موارد زیر می‌باشد:

- خوانش رقت‌های مختلف از محلول دی‌کرومات پتاسیم فوق جهت کنتـرل خطـی‌بـودن مشـابه اسپکتروفتومتر
- کنترل رانش فتومتری به کمک سیان متهموگلوبین و قرائت جذب نوری هر ۱۵ دقیقه به‌مـدت یک ساعت مشابه اسپکتروفتومتر
- بررسی انوار ناخواسته مشابه اسپکتروفتومتر
- شرکت در برنامه کنترل کیفی خارجی
- بررسی صحت فتومتری و طول موج توسط شرکت پشتیبان

ایمنی

- قبل از باز کردن و تعمیر حتما سیم فتومتر از پریز برق بیرون آورده شود.
- باید هنگام کار با مواد شیمیایی خطرناک تمامی موارد ایمنی رعایت گردد.
- به منظور پیشگیری از اثرات نوسانات جریان الکتریکی لازم است که:

➢ دستگاه به سیستم تثبیت کننده ولتاژ برق (Voltage Regulator) یا سیستم تامین کننده برق اضطراری (UPS) که دارای تثبیت کننده ولتاژ داخلی می‌باشد متصل گردد.

➢ سیستم برق دستگاه باید دارای سیم اتصال به زمین مناسب (ارت‌دار) باشد.

دستورالعمل فنی ترازو

ترازو برای وزن کردن مواد جهت ساختن استانداردها، محلول‌های مورد استفاده در کنترل کیفی، محیط سازی و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرد و معمولاً بر دو نوع مکانیکی و الکترونیکی است.

دستورالعمل فنی ترازوی مکانیکی

ترازوهای مکانیکی معمولا دو کفه‌ای با ظرفیت ۲۰۰gr با کوچک‌ترین درجه‌بندی یک میلی‌گرم هستند.

چگونگی کاربری

ابتدا جایگاه حباب ترازو را در مرکز دستگاه کنترل نموده و در صورت لزوم پایه‌های آن را تنظیم کنید. ترازو را روشن و پس از warm up شدن، آن را بر روی صفر تنظیم نمایید. بدون خاموش کردن ترازو، کاغذ مخصوص اندازه‌گیری را روی کفه گذاشته و ترازو را با کاغذ مخصوص مجددا بر روی صفر تنظیم نمایید.

سپس ترازو را (بدون خاموش کردن) با سه پیچ سمت چپ که بر اساس گرم است و بیشینه آن ۲۰۰ گرم است بر روی ارقام مورد نظر کالیبر نموده، سپس دو رقم سمت راست را نیز توسط پیچ مربوطه (سمت راست) تنظیم نمایید. تنظیم دو رقم بعد از ممیز (دو رقم وسط) توسط ماده‌ای که روی کفه ریخته می‌شود صورت می‌گیرد. آن‌قدر ماده مورد نظر را اضافه کنید تا اعداد مورد نظر بر روی صفحه مدرج ظاهر شود.

- ترازو باید پیش از هر اندازه‌گیری صفر شود.
- برای توزین باید از کوچک‌ترین ظرف ممکن استفاده شود. از توزین در ظروف پلاستیکی اجتناب شود. باید از ظروف شیشه‌ای یا کاغذ توزین استفاده شود. ظرف توزین و نمونه باید به دمای اتاق رسانیده شود.
- ماده مورد نظر در ظروف مخصوص، وسط کفه ترازو قرار داده شود تا از خطای بارگیری گوشه‌ای اجتناب شود.
- مایعات و پودرها هیچگاه نباید مستقیما روی کفه ترازو قرار داده شوند. پیش از توزین ماده مورد نظر باید وزن ظرف توزین تعیین شود.
- بهتر است در محفظه توزین به جای دست از پنس استفاده شود.
- محل کار، محفظه توزین و کفه ترازو باید تمیز نگه‌داشته شوند. برای جلوگیری از هر نوع اثر خوردگی مواد شیمیایی در صورت ریختن باید بلافاصله آن‌ها را تمیز نمود. مواد بیولوژیک

می‌توانند منبع عفونت باشند. برای تمیزکردن کفه و وزنه‌ها از آب درجه I و جهت آلودگی‌زدایی از اتانول ۷۰°C استفاده گردد.

پس از اتمام توزین، ترازو به حالت صفر برگردانده می‌شود و روکش آن کشیده شود.

نحوه نگه‌داری

دو عامل مهم در نگه‌داری ترازو دخیل است: تمیز نگهداشتن ترازو و خودداری از وارد نمودن نوسانات بیش از حد به ترازو.

ترازو باید روی سطحی قرار گیرد که ارتعاشات زمینه بر عمل توزین تاثیر نگذارد.

از نگه‌داری ترازو در محیط‌های مرطوب خودداری شود. ترازو نباید هنگام توزین در معرض جریان همرفت هوایی قرار گیرد.

کنترل کیفی

ترازو باید سالی دو بار کنترل شود.

- **کنترل صحت:** برای این کار می‌توان از وزنه‌های کالیبراسیون استفاده نمود. به این ترتیب که به‌طور مثال برای ترازوهای مکانیکال، وزنه‌های مشخصی را بر روی کفه ترازو قرار داده و مطابقت عدد حاصله با وزن واقعی را با استفاده از فرمول عدم صحت بررسی نمایید. حداکثر میزان عدم صحت مجاز ۰/۱٪ است.

باید توجه نمود که خطای ثابت در مقادیر کم از اهمیت بیش‌تری برخوردار است تا در وزن‌های زیاد.

- **کنترل دقت:** وزنه‌های فوق بطور مکرر (ده بار) توزین می‌شود و میانگین و انحراف از معیار و ضریب انحراف مشخص می‌شود و بدین ترتیب خطای عدم دقت محاسبه می‌گردد.

لازم به ذکر است که خطای قابل قبول عدم دقت در وزنه‌های مختلف، متفاوت می‌باشد که خوانندگان می‌توانند برای مطالعه بیشتر به منابع مربوطه مراجعه نمایند.

کالیبراسیون

ترازو باید در فواصل زمانی مناسب (معمولا سالی یک‌بار) کالیبر گردد.

ایمنی

- پس از اتمام کار دو شاخه از پریز برق جدا و روکش آن کشیده شود.
- پایین‌آوردن سریع کفه ترازو یا عوض‌کردن وزنه‌ها هنگامی‌که ترازو قفل نباشد، بر عملکرد صحیح ترازو اثر نامطلوب خواهد داشت.

دستورالعمل فنی ترازوی الکترونیک

کلیات

این ترازو یک کفه‌ای بوده و از نیروی الکترومغناطیسی برای توزین استفاده می‌کند. حسن این نوع ترازو سرعت و دقت در توزین است.

چگونگی کاربری

بعد از قراردادن ترازو در یک سطح تراز، آن را به برق وصل کنید. ترازکردن ترازو با استفاده از پایه‌های پیچی دستگاه انجام می‌شود. دستگاه قبل از توزین باید به‌مدت حداقل ۳۰ دقیقه روشن باشد (warm up) . برای توزین، نمونه در وسط کفه ترازو قرار گرفته و پس از ثابت شدن عدد بر روی نشانگر، جرم نمونه از روی صفحه دیجیتال قرائت می‌شود. اصل توزین براساس مقایسه وزن مورد نظر با یک وزنه شناخته شده است.

نحوه نگه‌داری

* از به‌کاربردن محلول‌های پاک‌کننده که به دستگاه صدمه می‌زند، خودداری کنید. برای تمیزکردن، با یک تکه پارچه آغشته به مایع پاک‌کننده معمولی، ترازو را تمیز کرده و با پارچه خشک دیگر آن را خشک نمایید.
* از وارد کردن ضربه به ترازو شدیدا پرهیز کنید. جابجایی ترازو ممکن است آنرا از کالیبر خارج کند.
* باید از پایین آوردن سریع کفه یا عوض‌کردن سریع وزنه‌ها هنگامی‌که ترازو قفل نباشد خودداری کرد.

کنترل کیفی

مشابه ترازوی مکانیکی است. دقت توزین در صورت لزوم با روش احتساب وزن خالص (Tare) انجام می‌شود.

کنترل کیفی ترازو در صورتی‌که دستگاه فاقد سیستم کالیبراسیون داخلی باشد به‌وسیله تعدادی وزنه استاندارد کالیبره در محدوده گستره ترازو انجام گرفته (External calibration) و خطاهای به‌دست آمده در هر نقطه و هم‌چنین پراکندگی توزین‌های متوالی با مراجع مقایسه می‌گردد (به OIML-R76 مراجعه شود) و در صورتی که ترازو دارای سیستم کالیبراسیون داخلی (Internal Calibration) باشد، هم کالیبراسیون داخلی و هم خارجی انجام می‌گیرد.

اگر آزمایشگاه مجهز به وزنه‌های استاندارد جهت کنترل کیفی ترازو باشد، این وزنه‌ها باید سالی یک‌بار توسط آزمایشگاه‌های تایید صلاحیت شده، کالیبره شوند.

ایمنی

برای اتصال به برق فقط از آداپتور DC خود دستگاه استفاده شود. استفاده از آداپتوری غیر از آداپتور دستگاه ممکن است در نمایش‌های نشانگر دستگاه ایجاد نوسانات غیرمنطقی کند و یا به ترازو آسیب برساند.

دستورالعمل فنی سمپلر (میکروپی‌پت)

کلیات

سمپلر برای انتقال حجم‌های کم نمونه با دقت و صحت بالا مورد استفاده قرار می‌گیرد. سمپلرها به عنوان میکروپی‌پت To Deliver (TD) کالیبر شده‌اند و نیازی به شست‌وشوی آن‌ها در محلول دریافت کننده وجود ندارد.

چگونگی کاربری

بر طبق دستورالعمل مندرج در کتابچه راهنمای سمپلر انجام می‌شود.

نکات مهم در نحوه کار با سمپلر:

- اطمینان از اتصال محکم سر سمپلر
- عمود نگهداشتن سمپلر در زمان مکش
- تخلیه محلول با تماس نوک سمپلر به جداره ظرف با زاویه ۴۰-۱۰ درجه
- فشردن و رها کردن آرام دکمه در زمان برداشت و تخلیه
- کشیدن نوک سمپلر به لبه ظرف برای حذف قطرات اضافی
- ۳-۱ ثانیه تامل پس از فشار تا توقف اول در زمان تخلیه محلول، ضمن تماس با جداره

نحوه نگه‌داری

نگه‌داری دوره‌ای: شامل شست‌وشو و کنترل کیفی سمپلر است. شست‌وشو سالی دو بار و قبل از انجام مراحل کنترل کیفی انجام می‌شود و برای تمیزکردن قسمت‌های داخلی است که بر اساس روش موجود در راهنمای سمپلر انجام می‌گیرد.

توجه به این نکته لازم است که پیستون پس از شست‌وشو باید با مقدار کمی از روغن مخصوص سمپلر روغن‌کاری شود.

در صورت لزوم تمامی قسمت‌های خارجی را می‌توان با محلول آب و صابون تمیز و پس از آب‌کشی در دمای اتاق خشک کرد.

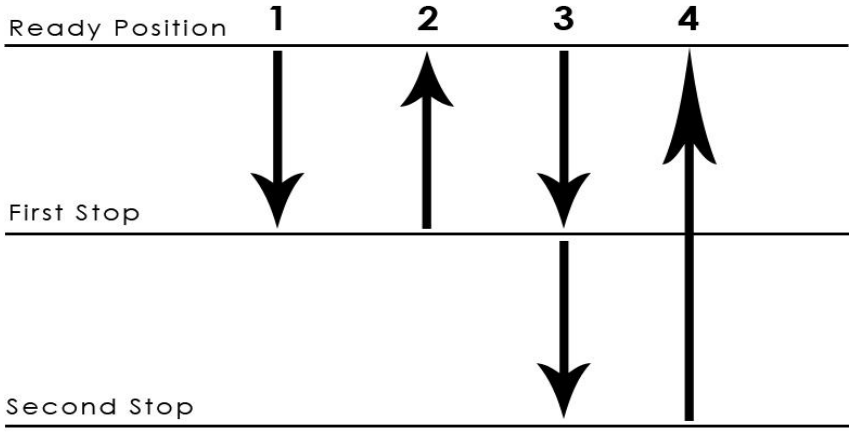
برای ضدعفونی کردن سمپلر استفاده از ایزوپروپانل ۶۰٪ پیشنهاد می‌شود.

جهت سترون‌سازی سمپلر حتما به کتابچه راهنمای سمپلر مراجعه کرده و اصول استاندارد سترون سازی را رعایت کنید.

انواع روش‌های پی‌پتینگ (پی‌پت کردن)

۱- روش forward :

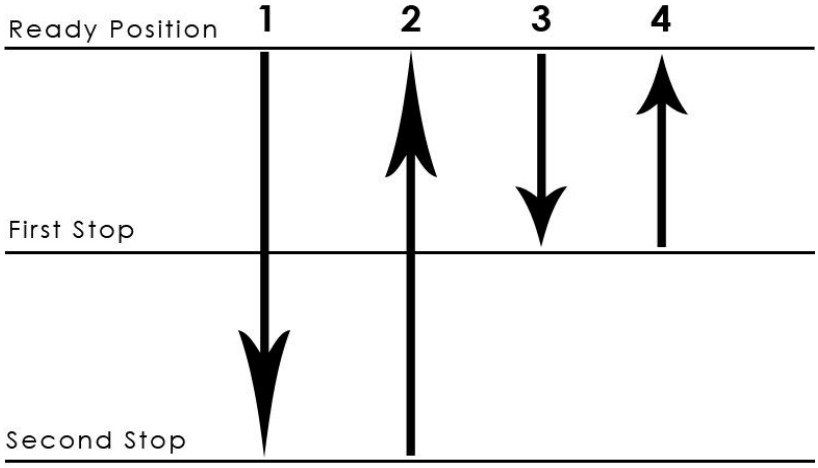
این روش معمول‌ترین روش پیپتینگ می‌باشد که جهت توزیع مایعات همگن با خواص نرمال و چگالی نزدیک به آب استفاده می‌شود (شکل ۱-۱).



شکل ۱-۱: پی‌پت کردن در روش forward

۲- روش repetitive :

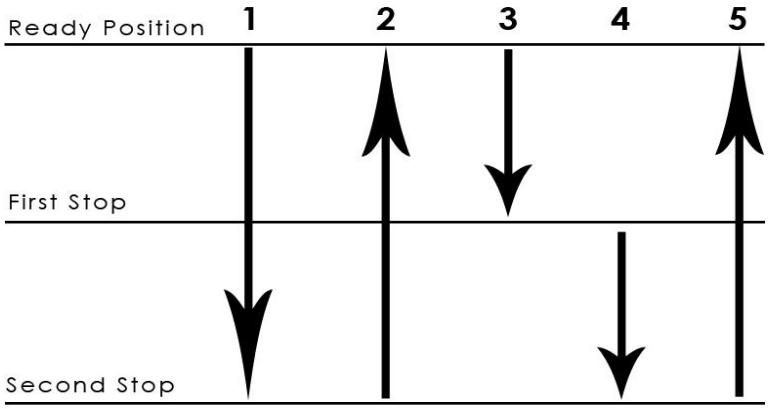
این روش جهت توزیع مایع در حجم‌های یکسان در چند ظرف بصورت تکراری استفاده می‌شود (شکل ۲-۱).



شکل ۲-۱: پی‌پت کردن در روش repetitive

۳- روش reverse :

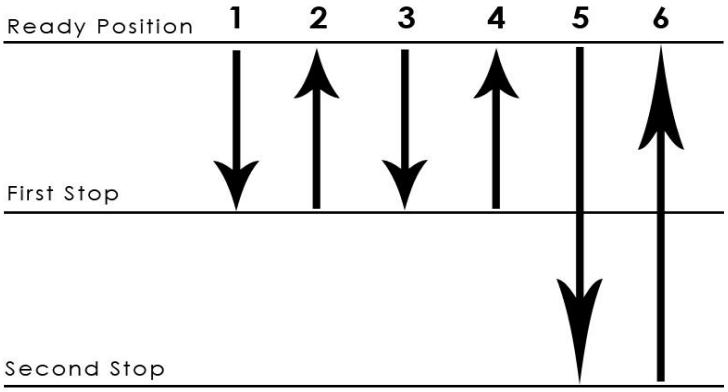
این روش جهت توزیع مایعات با چگالی بیش‌تر از آب، مایعاتی که تمایل به کف‌زایی داشته و یا در برخی موارد در توزیع مایع در حجم‌های بسیار کم توصیه می‌شود (شکل ۳-۱).



شکل ۳-۱: پی‌پت کردن در روش reverse

۴- روش توزیع محلول‌های ناهمگن (مانند خون):

این روش برای محلول‌های ناهمگن مثل خون کاربرد دارد و همان‌طور که در شکل ۴-۱ دیده می‌شود در ابتدا محلول (خون) چندین بار تا مرحله اول داخل و خارج می‌شود، سپس حجم مورد نیاز برداشت می‌شود.



شکل ۴-۱: پی‌پت کردن در روش توزیع محلول‌های ناهمگن

کنترل کیفی

در امر کنترل کیفی سمپلر، پیش از هر اقدامی ابتدا باید با استفاده از ابزار سرویس مربوطه مانند روغن، الکل سفید و میله بازکننده انسدادهای احتمالی، نسبت به سرویس سمپلر اقدام نمود. در صورت صحت ساختمان فیزیکی سمپلر، کنترل کیفی انجام می‌پذیرد.

بررسی دقت و صحت سالی دو بار به دو روش رنگ‌سنجی (با استفاده از رنگ سبز خوراکی و با پارانیتروفنل) و یا روش توزین امکان‌پذیر است.

۱- روش رنگ‌سنجی

الف) رنگ سبز خوراکی

سمپلرها در کارهای متداول به دو گروه ۱۰۰-۱۰ میکرولیتر و ۱۰۰۰-۱۰۰ میکرولیتر تقسیم می‌شوند. برای هر گروه باید یک محلول ذخیره از رنگ سبز خوراکی تهیه نمود. برای گروه ۱۰۰-۱۰ میکرولیتر، محلول ۱۵۵ میلی‌گرم درصد رنگ سبز در آب مقطر و برای گروه ۱۰۰۰-۱۰۰ میکرولیتر، محلول ۱۵/۵ میلی‌گرم درصد آماده می‌شود.

غلظت در محلول‌های ذخیره به‌گونه‌ای انتخاب شده که محلول ۱۵۵ میلی‌گرم درصد پس از رقیق شدن به نسبت ۱/۱۰۱ و محلول ۱۵/۵ میلی‌گرم درصد پس از رقیق شدن به نسبت ۱/۱۱، جذبی حدود ۰/۴ داشته باشند.

ب) محلول پارانیتروفنل

به جای رنگ سبز خوراکی می‌توان از محلول پارانیتروفنل استفاده نمود.

Paranitrophenol ($C_6H_5NO_3$), indicator pH (5.4-7.5), MERCK, Art.6798

در این روش محلول ذخیره با توجه به حجم سمپلر تهیه می‌شود.

- **سمپلرهای با حجم کمتر از ده میکرولیتر:** برای تهیه محلول ذخیره، ۴۲۰ میلی‌گرم پارانیتروفنل در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل می‌شود.
  - کنترل دقت: در ده لوله آزمایش بسته به نوع سمپلر رقت ۱/۱۰۰۱ از محلول ذخیره در سود ۰/۰۱ نرمال تهیه می‌شود.
  - کنترل صحت: در بالن ژوژه ۱ لیتری، ۱ میلی‌لیتر از محلول ذخیره به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر سود ۰/۰۱ نرمال اضافه می‌شود.
- **سمپلرهای با حجم ۱۰۰-۱۰ میکرولیتر:** برای تهیه محلول ذخیره، ۴۲ میلی گرم پارانیتروفنل در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل می‌شود.
  - کنترل دقت: در ده لوله آزمایش بسته به نوع سمپلر رقت ۱/۱۰۱ از محلول ذخیره در سود ۰/۰۱ نرمال تهیه می‌شود.

- کنترل صحت: در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری، ۱ میلی‌لیتر از محلول ذخیره به ۱۰۰ میلی‌لیتر سود ۰/۰۱ نرمال اضافه می‌شود.

➢ **سمپلرهای با حجم ۱۰۰۰-۱۰۰ میکرولیتر:** برای تهیه محلول ذخیره، ۴۲ میلی گرم پارانیتروفنل در ۱ لیتر آب مقطر حل می‌شود.

- کنترل دقت: در ده لوله آزمایش بسته به نوع سمپلر رقت ۱/۱۱ از محلول ذخیره در سود ۰/۰۱ نرمال تهیه می‌شود.
- کنترل صحت: در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری، ده میلی‌لیتر از محلول ذخیره به ۱۰۰ میلی‌لیتر سود ۰/۰۱ نرمال اضافه می‌شود.

جذب نوری این محلول‌ها پس از اعمال ضریب رقت در طول موج ۴۰۵ نانومتر حدود ۰/۵۵ خواهد بود. فتومتر با آب مقطر یا سود صفر می‌شود.

- **کنترل صحت**

جهت کنترل صحت عملکرد سمپلر باید بتوان به درستی محلول رنگی را با همان ضریب رقت، که در بالا با کمک پی‌پت و بالن ژوژه کلاس A تهیه شده است، رقیق نمود. جذب محلول رنگی بدست آمده (حداقل سه خوانده) با میانگین جذب بدست آمده در ارزیابی دقت (به‌دست آمده در بالا) مقایسه و طبق فرمول عدم صحت میزان خطا بر حسب درصد محاسبه می‌شود.

- **کنترل دقت**

ده لوله چیده می‌شود و محلول ذخیره رنگی متناسب با حجم سمپلر مورد نظر برای کنترل انتخاب می‌گردد (مثلا برای سمپلرهای با حجم ۱۰۰۰-۱۰۰ میکرولیتر از ده لوله حاوی رقت ۱/۱۱ ماده رنگی استفاده می‌شود). با سمپلر مورد نظر از محلول ذخیره رنگی کشیده شده و به لوله‌ها ریخته می‌شود و پس از مخلوط کردن، جذب نوری لوله‌ها در مقابل آب مقطر قرائت می‌گردد. اختلاف در جذب نوری لوله‌ها به اختلاف در حجم رنگ انتقالی توسط سمپلر نسبت داده می‌شود و با محاسبه ضریب انحراف میزان عدم دقت یا تکرارپذیری محاسبه می‌شود.

۲- روش توزین

در کنترل کیفی سمپلر به روش توزین، ارزیابی دقت و صحت سمپلر با استفاده از یک ترازوی آزمایشگاهی کالیبره که مشخصات آن در جدول ۳-۱ آورده شده، انجام می‌گیرد.

جدول ۳-۱: مشخصات ترازوی آزمایشگاهی کالیبره برای حجم مورد نظر سمپلر

حجم انتخاب شده وسیله تحت آزمون[a] V	تفکیک‌پذیری mg	تکرارپذیری و خطی بودن mg	عدم قطعیت استاندارد اندازه‌گیری mg
۱μl ≤ V ≤ ۱۰μl	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲
۱۰μl < V ≤ ۱۰۰μl	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۲
۱۰۰μl < V ≤ ۱۰۰۰μl	۰/۱	۰/۲	۰/۲
۱ml < V ≤ ۱۰ml	۰/۱	۰/۲	۰/۲
۱۰ml < V ≤ ۲۰۰ml	۱	۲	۲

a در استفاده‌های عملی می‌توان از حجم نامی جهت انتخاب ترازو استفاده کرد.

محدوده دمایی قابل قبول آزمایشگاه جهت کنترل کیفی به روش توزین ۱۵ تا ۳۰ درجه سانتی-گراد می‌باشد.

تعدادی نوک سمپلر نو و مناسب، مقداری آب مقطر یک‌بار تقطیر و یک دماسنج ۰/۱ کالیبره آماده کرده و به همراه ترازو و سمپلری که قرار است کنترل کیفیت روی آن انجام شود را حداقل یک ساعت قبل از انجام آزمون در کنار یکدیگر قرار دهید تا دمای همگی یکسان شود.

قبل از انجام آزمون ابتدا از صحت فنی سمپلر اطمینان حاصل کرده و سپس ۵ بار با مقدار حجم نامی، نوک سمپلر را با آب مقطر آبکشی کنید. آزمون سمپلر را به ترتیب زیر انجام دهید:

۱- در یک ظرف ترجیحا درب‌دار مقداری کمی آب مقطر ریخته و روی صفحه ترازو قرار داده و ترازو را صفر کنید.

۲- یک نوک سمپلر نو و مناسب به سمپلر متصل کرده، سمپلر را درصورتی‌که حجم متغیر باشد روی حجم نامی قرار داده و به اندازه حجم نامی آب مقطر کشیده و در ظرفی که روی ترازو قرار دارد تخلیه کنید.

۳- جرم خوانده شده از ترازو را ثبت کنید (m_1).

۴- ترازو را صفر کنید.

۵- مراحل ۲ تا ۴ را ۹ بار دیگر تکرار کنید تا مقادیر $m_1, m_2, ..., m_{10}$ به دست آید.

۶- دمای آب مقطر را بوسیله دماسنج ۰/۱ بدست آورده و ثبت کنید (t).

۷- مقدار جرم میانگین ۱۰ بار توزین را با استفاده از فرمول زیر محاسبه کنید:

$$\overline{m} = \frac{\sum_{i=1}^{10} m_i}{10}$$

۸- فاکتور تبدیل جرم به حجم (z) را از جدول ۴-۱ استخراج کنید:

جدول ۴-۱ – فاکتور تبدیل جرم به حجم (Z) براساس فشار و دما

دما °C	فشار هوا Kpa						
	۱۰۵	۱۰۱/۳	۱۰۰	۹۵	۹۰	۸۵	۸۰
۱۵/۰	۱/۰۰۲۰	۱/۰۰۲۰	۱/۰۰۲۰	۱/۰۰۱۹	۱/۰۰۱۹	۱/۰۰۱۸	۱/۰۰۱۷
۱۵/۵	۱/۰۰۲۱	۱/۰۰۲۰	۱/۰۰۲۰	۱/۰۰۲۰	۱/۰۰۱۹	۱/۰۰۱۹	۱/۰۰۱۸
۱۶/۰	۱/۰۰۲۲	۱/۰۰۲۱	۱/۰۰۲۱	۱/۰۰۲۱	۱/۰۰۲۰	۱/۰۰۲۰	۱/۰۰۱۹
۱۶/۵	۱/۰۰۲۲	۱/۰۰۲۲	۱/۰۰۲۲	۱/۰۰۲۱	۱/۰۰۲۱	۱/۰۰۲۰	۱/۰۰۲۰
۱۷/۰	۱/۰۰۲۳	۱/۰۰۲۳	۱/۰۰۲۳	۱/۰۰۲۲	۱/۰۰۲۲	۱/۰۰۲۱	۱/۰۰۲۱
۱۷/۵	۱/۰۰۲۴	۱/۰۰۲۴	۱/۰۰۲۴	۱/۰۰۲۳	۱/۰۰۲۳	۱/۰۰۲۲	۱/۰۰۲۲
۱۸/۰	۱/۰۰۲۵	۱/۰۰۲۵	۱/۰۰۲۵	۱/۰۰۲۴	۱/۰۰۲۳	۱/۰۰۲۳	۱/۰۰۲۲
۱۸/۵	۱/۰۰۲۶	۱/۰۰۲۶	۱/۰۰۲۵	۱/۰۰۲۵	۱/۰۰۲۴	۱/۰۰۲۴	۱/۰۰۲۲
۱۹/۰	۱/۰۰۲۷	۱/۰۰۲۷	۱/۰۰۲۶	۱/۰۰۲۶	۱/۰۰۲۵	۱/۰۰۲۵	۱/۰۰۲۴
۱۹/۵	۱/۰۰۲۸	۱/۰۰۲۸	۱/۰۰۲۷	۱/۰۰۲۷	۱/۰۰۲۶	۱/۰۰۲۶	۱/۰۰۲۵
۲۰/۰	۱/۰۰۲۹	۱/۰۰۲۹	۱/۰۰۲۸	۱/۰۰۲۸	۱/۰۰۲۷	۱/۰۰۲۷	۱/۰۰۲۶
۲۰/۵	۱/۰۰۳۰	۱/۰۰۳۰	۱/۰۰۲۹	۱/۰۰۲۹	۱/۰۰۲۸	۱/۰۰۲۸	۱/۰۰۲۷
۲۱/۰	۱/۰۰۳۱	۱/۰۰۳۱	۱/۰۰۳۱	۱/۰۰۳۰	۱/۰۰۲۹	۱/۰۰۲۹	۱/۰۰۲۸
۲۱/۵	۱/۰۰۳۲	۱/۰۰۳۲	۱/۰۰۳۲	۱/۰۰۳۱	۱/۰۰۳۱	۱/۰۰۳۰	۱/۰۰۳۰
۲۲/۰	۱/۰۰۳۳	۱/۰۰۳۳	۱/۰۰۳۳	۱/۰۰۳۲	۱/۰۰۳۲	۱/۰۰۳۱	۱/۰۰۳۱
۲۲/۵	۱/۰۰۳۴	۱/۰۰۳۴	۱/۰۰۳۴	۱/۰۰۳۳	۱/۰۰۳۳	۱/۰۰۳۲	۱/۰۰۳۲
۲۳/۰	۱/۰۰۳۶	۱/۰۰۳۵	۱/۰۰۳۵	۱/۰۰۳۴	۱/۰۰۳۴	۱/۰۰۳۳	۱/۰۰۳۳
۲۳/۵	۱/۰۰۳۷	۱/۰۰۳۶	۱/۰۰۳۶	۱/۰۰۳۶	۱/۰۰۳۵	۱/۰۰۳۵	۱/۰۰۳۴
۲۴/۰	۱/۰۰۳۸	۱/۰۰۳۸	۱/۰۰۳۷	۱/۰۰۳۷	۱/۰۰۳۶	۱/۰۰۳۶	۱/۰۰۳۵
۲۴/۵	۱/۰۰۳۹	۱/۰۰۳۹	۱/۰۰۳۹	۱/۰۰۳۸	۱/۰۰۳۸	۱/۰۰۳۷	۱/۰۰۳۷
۲۵/۰	۱/۰۰۴۰	۱/۰۰۴۰	۱/۰۰۴۰	۱/۰۰۳۹	۱/۰۰۳۹	۱/۰۰۳۸	۱/۰۰۳۸
۲۵/۵	۱/۰۰۴۲	۱/۰۰۴۱	۱/۰۰۴۱	۱/۰۰۴۱	۱/۰۰۴۰	۱/۰۰۴۰	۱/۰۰۳۹
۲۶/۰	۱/۰۰۴۳	۱/۰۰۴۳	۱/۰۰۴۲	۱/۰۰۴۲	۱/۰۰۴۱	۱/۰۰۴۱	۱/۰۰۴۰
۲۶/۵	۱/۰۰۴۴	۱/۰۰۴۴	۱/۰۰۴۴	۱/۰۰۴۳	۱/۰۰۴۳	۱/۰۰۴۲	۱/۰۰۴۲
۲۷/۰	۱/۰۰۴۶	۱/۰۰۴۵	۱/۰۰۴۵	۱/۰۰۴۵	۱/۰۰۴۴	۱/۰۰۴۴	۱/۰۰۴۳
۲۷/۵	۱/۰۰۴۷	۱/۰۰۴۷	۱/۰۰۴۷	۱/۰۰۴۶	۱/۰۰۴۶	۱/۰۰۴۵	۱/۰۰۴۵
۲۸/۰	۱/۰۰۴۸	۱/۰۰۴۸	۱/۰۰۴۸	۱/۰۰۴۷	۱/۰۰۴۸	۱/۰۰۴۶	۱/۰۰۴۶
۲۸/۵	۱/۰۰۵۰	۱/۰۰۵۰	۱/۰۰۴۹	۱/۰۰۴۹	۱/۰۰۴۸	۱/۰۰۴۸	۱/۰۰۴۷
۲۹/۰	۱/۰۰۵۱	۱/۰۰۵۱	۱/۰۰۵۱	۱/۰۰۵۰	۱/۰۰۵۰	۱/۰۰۴۹	۱/۰۰۴۹
۲۹/۵	۱/۰۰۵۳	۱/۰۰۵۲	۱/۰۰۵۲	۱/۰۰۵۲	۱/۰۰۵۱	۱/۰۰۵۱	۱/۰۰۵۰
۳۰/۰	۱/۰۰۵۴	۱/۰۰۵۴	۱/۰۰۵۴	۱/۰۰۵۳	۱/۰۰۵۳	۱/۰۰۵۲	۱/۰۰۵۲

یادآوری – مقادیر Z برحسب میکرولیتر بر میلی‌گرم می‌باشد.

۹- مقادیر v_1 تا v_{10} و $\bar{v}$ را با استفاده از فرمول های زیر محاسبه کنید:

$$\bar{v} = \bar{m}.z$$

$$v_i = m_i.z$$

۱۰- مقادیر Bias و CV را به ترتیب جهت ارزیابی صحت و دقت سمپلر با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه کنید:

$$Bias\% = \frac{\bar{v} - v}{v} \times 100$$

v، حجم مورد انتظار سمپلر است.

$$CV\% = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{10}(v_i - \bar{v})^2}{9}}}{\bar{v}} \times 100 = \frac{SD}{\bar{v}} \times 100$$

۱۱- مقادیر Bias و CV به دست آمده را با مقادیر بیشینه مجاز (جدول ۵-۱) مقایسه کنید. در صورتی‌که مقادیر به دست آمده کوچک‌تر یا مساوی مقادیر پیشینه مجاز باشد، به ترتیب صحت و دقت سمپلر در حجم نامی سمپلر قابل قبول است. در جدول ۵-۱ مقادیر بیشینه خطای سیستماتیک (Bias) و تصادفی (CV) مجاز بر حسب µl و درصد بیان گردیده است.

جدول ۵-۱- مقادیر بیشینه خطای مجاز (Bias و CV) قابل قبول در حجم نامی سمپلر

حجم نامی	بیشینه خطای سیستماتیک مجاز		بیشینه خطای تصادفی مجاز	
µl	±%	±µl	±%	±µl
۱	۵/۰	۰/۰۵	۵/۰	۰/۰۵
۲	۴/۰	۰/۰۸	۲/۰	۰/۰۴
۵	۲/۵	۰/۱۲۵	۱/۵	۰/۰۷۵
۱۰	۱/۲	۰/۱۲	۰/۸	۰/۰۸
۲۰	۱/۰	۰/۲	۰/۵	۰/۱
۵۰	۱/۰	۰/۵	۰/۴	۰/۲
۱۰۰	۰/۸	۰/۸	۰/۳	۰/۳
۲۰۰	۰/۸	۱/۶	۰/۳	۰/۶
۵۰۰	۰/۸	۴/۰	۰/۳	۱/۵
۱۰۰۰	۰/۸	۸/۰	۰/۳	۳/۰
۲۰۰۰	۰/۸	۱۶	۰/۳	۶/۰
۵۰۰۰	۰/۸	۴۰	۰/۳	۱۵/۰
۱۰۰۰۰	۰/۶	۶۰	۰/۳	۳۰/۰

۱۲- همین آزمون را بر روی ۵۰٪ حجم نامی و ۱۰٪ حجم نامی انجام دهید.

۱۳- در صورتی‌که دقت یا صحت سمپلر غیرقابل قبول باشد، سمپلر نیاز به تنظیم (adjustment) دارد.

جهت اطلاعات بیشتر در خصوص سمپلرهای جابجایی مثبت و چندکاناله به استاندارد ملی ایران isiri 11504-6 و در خصوص ویژگی‌ها و انواع سمپلرها به استاندارد ملی ایران isiri 11504-2 مراجعه کنید. با توجه به این‌که در عمل مقادیر جدول بالا در بیشتر مراکز قابل دستیابی نمی‌باشد، معیارهای مورد تایید آزمایشگاه مرجع سلامت در این خصوص دامنه گسترده‌تری را پوشش می‌دهد که آزمایشگاه‌ها می‌توانند آن مقادیر را به عنوان CV و Bias ملاک عمل قرار دهند.

کالیبراسیون

در صورت مشاهده خطای دقت یا صحت، سمپلر جهت کالیبراسیون به شرکت پشتیبان ارسال می‌گردد.

ایمنی و نکات مهم

- ضربه به سمپلر می‌تواند این وسیله را از کالیبراسیون خارج نماید.
- مایع نباید وارد قسمت‌های داخلی سمپلر گردد، همیشه از نوک سمپلر مناسب با حجم برداشتی استفاده شود.
- تماس دست با نوک سمپلر آلوده ممنوع است.
- در صورت مکش محلول‌های اسیدی و سایر محلول‌های خورنده باید بخش نگهدارنده سر سمپلر (Tip holder) باز شده و پیستون و حلقه پلاستیکی (O-ring) بخوبی با آب مقطر شسته شود.
- هرگز نباید سمپلر حاوی محلول به پهلو به زمین گذاشته شود.
- هرگز نباید از سمپلرهای متغیر برای کشیدن حجمی خارج از محدوده حجمی ادعایی آن‌ها استفاده شود.

دستورالعمل لوازم شیشه‌ای

کلیات

اکثر لوازم شیشه‌ای آزمایشگاه از نوع سدیم، آلومینوم بوروسیلیکات همراه دی‌اکسید سیلیکون است. این نوع شیشه دارای مقاومت حرارتی، فیزیکی و شیمیایی بالایی بوده و در مقابل خوردگی نیز مقاوم است. در نمونه‌های تجاری، انواع پیرکس یا کیماکس معروف هستند.

چگونگی کاربری لوازم شیشه‌ای

باید دقت نمود مواد قلیایی در آن‌ها نگه‌داری نگردد زیرا قلیا، شیشه را حل نموده و صحت خطوط نشانه ظرف را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

در مورد لوازم شیشه‌ای دو عامل مهم است: یکی صحت حجمی‌کالیبراسیون و دیگری نظافت آن‌ها.

- **نحوه شست‌وشو، کنترل کیفی و جرم زدایی لوازم شیشه‌ای**

نحوه شست‌وشوی لوازم شیشه‌ای:

- باید بلافاصله بعد از استفاده از وسایل شیشه‌ای، آن‌ها را با آب لوله‌کشی معمولی به‌طور کامل شست‌وشو داد.
- بدیهی است که باید همیشه وسایل آلوده را قبل از شست‌وشو، ضدعفونی نمود.
- ترکیبات قلیایی موجود در سطح وسایل شیشه‌ای آغشته به سود، باید با قراردادن آن‌ها در محلول اسیدکلریدریک ۵٪ خنثی گردد و سپس چند مرحله با آب لوله‌کشی و در انتها با آب مقطر آب‌کشی شود.
- وسایل شیشه‌ای نو که برای اولین بار مورد استفاده قرار می‌گیرند، باید با شوینده‌ها شست‌وشو داده شده و سپس با آب لوله‌کشی آب‌کشی شوند.
- جهت خنثی‌نمودن ترکیبات قلیایی که در روی ظروف شیشه‌ای نو وجود دارد، باید آن‌ها را چندین ساعت در اسیدکلریدریک ۱٪ قرار داد و سپس آن‌ها را کاملا با آب معمولی و آب مقطر آب‌کشی نموده و جهت خشک شدن در فور قرار داد. جهت کنترل و اطمینان از خنثی شدن مواد قلیایی آزاد موجود بر روی شیشه، وسایل شیشه‌ای را در آب مقطر خنثی و اتوکلا شده قرار داده و سپس pH آب را اندازه‌گیری می‌کنیم، اگر به علت وجود مواد قلیایی، pH آب بالا بود دوباره وسایل در محلول اسیدکلریدریک قرار داده می‌شود.
- اگر بعد از چند مرتبه عمل شست‌وشو و کنترل، باز هم مواد قلیایی آزاد شده وجود داشت، آن وسایل می‌بایست دور ریخته شوند و مورد استفاده قرار نگیرند.

شست‌وشوی وسایل شیشه‌ای با شوینده‌ها:

موقع استفاده از شوینده‌ها مانند مایع ظرفشویی جهت شست‌وشوی وسایل شیشه‌ای باید به نکات زیر توجه گردد:

- تمام وسایل شیشه‌ای به طور کامل در آب سرد لوله‌کشی قرار داده شود.
- سپس وسایل فوق در محلول شوینده قرار داده شده و کاملا به آن‌ها برس کشیده شود.
- در مرحله بعد وسایل با آب لوله‌کشی جاری کاملا شست‌وشو شود.
- پس از شست‌وشو با آب لوله‌کشی، سه مرتبه با آب مقطر آب‌کشی گردد (در هر سری آب‌کشی از آب مقطر تازه استفاده شود).
- به منظور گرفته شدن آب اضافی وسایل، باید آنها را در فور خشک نمود.
- وسایل شیشه‌ای را به‌طور وارونه داخل سبدهای فلزی گذاشته و ته سبدها چندین لایه کاغذ خشک‌کن ضخیم گذاشته شود.

شست‌وشوی پلیت و لوله‌های حاوی محیط‌های کشت آلوده که مجددا وارد چرخه کاری می‌شوند:

- ابتدا باید این وسایل را با اتوکلاو آلودگی زدایی نموده و سپس باقی مانده مواد موجود در آن‌ها را کاملا شسته و بقیه مراحل شست‌وشو را مانند روش‌های ذکر شده در بالا (شست‌وشو با شوینده) ادامه داد.

باید خاطر نشان نمودکه تمامی وسایلی که به مواد آلوده آغشته شده‌اند را باید قبل از مراحل شست‌وشو ابتدا کاملا ضدعفونی و در صورت لزوم سترون نمود.

روش ضدعفونی نمودن و سترون کردن وسایل شیشه‌ای

- تمامی وسایل آلوده را حداقل به‌مدت ۳۰ دقیقه در محلول سفیدکننده خانگی (حاوی کلر) با رقت ۱/۱۰ تهیه شده با آب معمولی قرار داده و سپس طبق دستورالعمل شست‌وشو، شسته و جهت اطمینان خاطر در فور با درجه حرارت ۱۶۰-۱۸۰°C به‌مدت دو تا چهار ساعت قرار می‌دهیم تا سترون گردند.

روش شست‌وشوی پی‌پت

- پی‌پت‌ها را به‌مدت یک شب در محلول تمیزکننده قرار دهید.
- سپس آن‌ها را کاملا با آب لوله‌کشی شست‌وشو دهید. بهتر است آن‌ها را یک شب در آب قرار داده و سپس با آب مقطر آب‌کشی کنید. (می‌توان از وسایل مخصوصی که جهت شست‌وشوی پی‌پت وجود دارد، استفاده نمود که در این حالت ابتدا با آب لوله‌کشی و سپس عمل شست‌وشو دو یا سه مرتبه با آب مقطر داغ انجام می‌شود).

- پی‌پت‌ها را با کشیدن و خالی کردن حجم کمی استون و هوا به تناوب و به‌صورت پی‌درپی نیز می‌توان خشک کرد (می‌توان از وسایل پی‌پت خشک کن برقی که ایجاد حرارت می‌نماید، استفاده نمود).
- قسمت بیرونی پی‌پت‌ها را با پارچه تمیز خشک نمایید.
- جهت جلوگیری از شکستن پی‌پت‌ها، آن‌ها را در ظروف مخصوصی که با اندازه‌های مختلف (جهت پی‌پت‌هایی با حجم‌های مختلف) وجود دارد، قرار دهید.
- بعد از استفاده از پی‌پت‌ها، باید فورا آن‌ها را با آب لوله‌کشی آب‌کشی نمایید، مخصوصا زمانی که با آن‌ها مایعات پروتئینی مانند خون کشیده شده باشد. می‌توان جهت تمیز نمودن آن‌ها را در محلول غلیظ هیدروکسیدسدیم (سود سوزآور) قرار داد. اما باید توجه نمود که مدت زمان تماس با این ماده خیلی کم باشد چون مواد قلیایی شیشه را حل می‌کند و ممکن است سبب ایجاد تغییراتی در حجم برداشتی گردد.
- پی‌پت‌هایی که جهت تهیه رنگ مورد استفاده قرار می‌گیرند، باید بلافاصله با اسیدکلریدریک شسته شوند.
- در صورت کشیدن مواد آلوده با این وسایل، باید آن‌ها را بلافاصله در یک محلول ضدعفونی قرار داد.
- جهت ضدعفونی می‌توان از محلول هیپوکلریت سدیم به میزان پنج گرم در لیتر و یا ۰/۵ گرم درصد و یا هرگونه محلول سفیدکننده خانگی که به نسبت ۱/۱۰ رقیق شده باشد، استفاده نمود.

- **جرم‌زدایی ابزار شیشه‌ای**

- برای حذف لکه‌های سخت، ظروف را به‌مدت چند ساعت در اسید سولفوکرومیک قرار می‌دهیم و پس از آب‌کشی مکرر با آب معمولی در نوبت آخر با آب مقطر شست‌وشو می‌دهیم.
- برای حذف جرم‌های ضعیف‌تر و آماده‌سازی وسایل شیشه‌ای برای برخی آزمایش‌ها مانند آهن و کلسیم از اسیدکلریدریک رقیق‌شده با آب مقطر به نسبت حجمی‌یک و سه استفاده می‌کنیم (و یا اسیدنیتریک رقیق‌شده به نسبت یک و چهار) و پس از آب‌کشی با آب مقطر خشک شود.

- **اسیدشوی کردن وسایل شیشه‌ای**

اسیدکلریدریک ۱۲ نرمال را به نسبت یک سوم رقیق می‌نماییم. وسایل یک روز در محلول فوق قرار می‌گیرند، سپس سه مرتبه با آب مقطر آب‌کشی می‌گردند.

کنترل کیفی نظافت لوازم شیشه‌ای

- هر هفته تمامی لوازم شیشه‌ای باید از لحاظ تمیز بودن بررسی گردند. وجود لکه نشان‌دهنده شست‌وشوی غیرقابل قبول است.
- آب مقطر به درون سطح ظروف چرخانده می‌شود. آب باید به‌صورت قشری یکپارچه از روی سطح ظرف عبور کند. در صورتی‌که آب به‌صورت قطرات بر روی سطح شیشه باقی بماند نشانه کثیف بودن آن‌ها است.
- محلول ۲۰mg/L سدیم سولفو بروموفتالئین به درون چند ظرف به‌طور انتخابی ریخته می‌شود. مشاهده رنگ صورتی، نشان‌دهنده وجود مواد پاک‌کننده بر روی شیشه و کافی‌نبودن آب‌کشی است.

در ادامه دستورالعمل فنی پی‌پت، توزیع‌گر (دیسپنسر)، بالن ژوژه و استوانه مدرج به طور اختصاصی شرح داده می‌شوند.

دستورالعمل فنی پی‌پت

کلیات

انجام موارد مشروحه ذیل توسط تمامی‌کاربران باید رعایت گردد. کنترل چگونگی اجرا و تایید نهایی توسط مدیر فنی صورت می‌پذیرد.

چگونگی کاربری

پی‌پت‌ها بر دو نوع هستند:

الف) پی‌پت‌های انتقالی

- پی‌پت حجمی: این نوع پی‌پت برای انتقال حجم مشخصی از مایع، رقیق کردن محلول، ساختن استاندارد، حل کردن سرم‌های کنترل و انتقال نمونه‌های غیرلزج به‌کارگرفته شود. این پی‌پت‌ها استوانه‌ای شکل و دارای یک حباب در وسط هستند و در قسمت پایینی لوله به یک لوله باریک ختم می‌شوند. تنگی سوراخ خروجی باعث جلوگیری از خروج سریع مایع می‌گردد. این پی‌پت‌ها در اندازه‌های ۱۰۰-۱ میلی‌لیتر وجود دارند. این پی‌پت‌ها بیش‌ترین صحت و دقت را دارند و بهتر است یک‌بار مصرف باشند.
- پی‌پت اسوالد-فولین: شبیه پی‌پت حجمی است ولی حباب آن نزدیک به انتها بوده و سطح تماس آن با مایع نیز کم است. در این نوع یک حلقه حک شده نزدیک قسمت دهانی وجود دارد که برای تخلیه کامل باید در آن فوت کرد. این نوع در اندازه‌های مختلف وجود دارد و بیش‌تر برای اندازه‌گیری مایعات ویسکوز (ناروان) مثل خون و سرم مورد استفاده قرار می‌گیرد.

ب) پی‌پت‌های مدرج یا اندازه‌گیری

این پی‌پت‌ها از یک استوانه شیشه‌ای با ضخامت یکسان درست شده‌اند و بیشتر برای اندازه‌گیری محلول‌ها کاربرد دارند و اگر از این پی‌پت‌ها جهت انتقال مایع استفاده می‌شود باید به نوع کالیبراسیون شرکتی آن‌ها و اصول صحیح پی‌پتینگ توجه کرد. این پی‌پت‌ها بر دو نوعند:

- پی‌پت مور: این نوع بین دو علامت مدرج گردیده است که به همین دلیل برای تخلیه آن باید بر مایع خروجی نظارت کرد. معمولا سوراخ آن‌ها از نوع سرولوژیک تنگ‌تر است و دیرتر تخلیه می‌گردند.
- پی‌پت سرولوژیک: این نوع پی‌پت تا نوک آن تقسیم‌بندی شده است. در این نوع برای تخلیه کامل مایع باید در آن فوت کرد. معمولا در نزدیک سطح دهانی این پی‌پت یک یا دو حلقه وجود دارد که به مفهوم فوت‌کردن است.

پی‌پت‌های حجمی توسط شرکت سازنده به دو صورت To deliver (TD) و To contain (TC) کالیبره می‌شوند که هنگام استفاده باید به نوع کالیبراسیون شرکتی پی‌پت توجه ویژه شود.

پی‌پت‌های TD به دو نحوه کالیبر شده‌اند: به‌صورتی که آخرین قطره مانده پی‌پت باید با دمیدن تخلیه حجم شود. این پی‌پت‌ها معمولا دارای یک خط در بالای استوانه پی‌پت هستند و در صورت فقدان این خط کدر، آخرین قطره در پی‌پت، دست نخورده باقی می‌ماند.

نکات مهم در انتخاب پی‌پت:

- پی‌پت در موقع کشیدن محلول عمودی و در موقع تخلیه اگر تخلیه کلی باشد با کمی زاویه به همراه تماس نوک پی‌پت با جداره داخلی ظرف و اگر تخلیه جزیی باشد عمودی نگه داشته می‌شود و جداره داخلی ظرف با کمی زاویه با نوک پی‌پت تماس داده می‌شود.
- در به‌کارگیری پی‌پت، باید نوع آن و هم‌چنین نوع کالیبراسیون شرکتی آن که معرف نحوه استفاده از پی‌پت است مدنظر قرار گیرد.
- نوع پی‌پت با توجه به حجم مورد نیاز، مشخص گردد.
- نحوه کار با پی‌پت با توجه به نوع آن متفاوت است که کاربر باید به این امر توجه کند.

نحوه نگه‌داری

پی‌پت‌ها را باید قبل از استفاده به دقت تمیز کرد زیرا هرگونه آلودگی باعث کاهش صحت و دقت آن می‌گردد.

پی‌پت‌ها را پس از خاتمه کار باید در محلول رقیق دترژانت غیریونی قرار داد و پس از سه تا پنج بار آب‌کشی، با آب خالص شست‌وشو داد. می‌توان با اندازه‌گیری pH آب انتقال یافته با پی‌پت، از شست‌وشوی آن اطمینان حاصل کرد.

در صورت لزوم به شست‌وشو با اسید، از محلول رقیق اسیدکلریدریک یا اسیدنیتریک استفاده گردد. خشک‌کردن آن در دمای اتاق یا کمتر از ۱۰۰°C صورت پذیرد.

هر سه ماه یک‌بار باید میزان عدم صحت پی‌پت با توجه به موارد ذیل بدست آید.

کنترل کیفی

- **کنترل صحت**

کنترل صحت پی‌پت به روش‌های وزنی و طیف‌سنجی (اسپکتروفتومتریک) قابل اجرا می‌باشد. براساس استاندارد بین‌المللی مربوطه هر ۳-۱ سال یک بار و بر اساس میزان استفاده و نوع کاربری پی‌پت بایستی تحت آزمون کنترل صحت قرار گیرد. پیشنهاد می‌شود آزمایشگاه‌ها این آزمون را یک بار در هر سال انجام دهند.

۱- روش وزنی: این روش برای پی‌پت‌های TD و با حجم بیش از ۰/۵ میلی‌لیتر توصیه می‌گردد و معمولا با آب خالص انجام می‌گیرد و با توجه به مراحل ذیل نسبت به آن اقدام می‌گردد:

- در ابتدا آب مقطر به مقدار کافی، ترازوی کالیبره با ۱۰ برابر قدرت قضاوت نسبت به پی‌پت، ویال درب‌دار و تمیز، گیره مخصوص حمل ویال را تهیه و دمای آن‌ها را به حرارت اتاق برسانید.
- سپس جرم ویال مورد نظر را ابتدا به همراه مقداری آب اندازه‌گیری و بعد از آن با ریختن ده میلی‌لیتر آب مقطر (مثلا برای پی‌پت ۱۰ میلی‌لیتری) داخل آن دوباره اندازه‌گیری نموده و اختلاف را در دو حالت محاسبه کنید. این کار را ۳ بار انجام دهید.
- عامل تصحیح جرم برای فشار و دمای محل آزمایشگاه با توجه به جداول مرتبط استخراج و در محاسبات به کار گرفته شود.
- با توجه به فرمول زیر، میزان عدم صحت محاسبه گردد:

$$\bar{v} = \bar{m}.z$$

$$\text{Bias\%} = \frac{\bar{v} - v}{v} \times 100$$

که در آن:

$\bar{m}$، جرم خوانده شده از ترازو

z، عامل تصحیح جرم

$\bar{v}$، حجم بدست آمده از روش توزین

v، حجم مورد انتظار پی‌پت می‌باشد.

۲- روش اسپکتروفتومتری: در ابتدا معادل حجم مورد نظر پی‌پت از یک محلول رنگی مثل دی‌کرومات پتاسیم توسط پی‌پت مورد نظر و پی‌پت استاندارد برداشته و هر کدام را در یک بالن ژوژه، رقیق کنید. سپس با اسپکتروفتومتر کالیبرشده، در طول موج مشخص ماده رنگی مورد نظر قرائت می‌گردد و مشابه فرمول بالا میزان عدم صحت تعیین می‌گردد.

- **کنترل دقت**

در صورت شست‌وشوی مناسب و رعایت در خوانش خط مینیسک (meniscus) توسط پرسنل کارآزموده و همچنین رعایت اصول استاندارد پیپتینگ، به تجربه ثابت گردیده است که حجم برداشت شده توسط پی‌پت علی‌رغم تکرار تقریبا یکسان است، لذا عامل عدم دقت در این مورد در نظر گرفته نمی‌شود.

کالیبراسیون

در صورتی‌که عدم صحت بدست آمده جهت آزمایش‌هایی که پی‌پت در آن‌ها استفاده می‌شود غیر قابل قبول باشد بسته به تصمیم مدیریت آزمایشگاه آن پی‌پت خارج از سرویس اعلام شده و یا با یک عامل تصحیح تا کنترل کیفی بعدی استفاده می‌شود.

رده‌بندی شیشه‌آلات بر اساس صحت

شیشه‌آلات حجمی بر اساس صحت درجه بندی (graduation) به دو رده یا کلاس A(,AS) و B تقسیم‌بندی می‌شوند. شیشه‌آلات کلاس A(AS) و دارای صحت بیش‌تر (تقریبا دو برابر) و تولرانس کمتری (تقریبا نصف) نسبت به کلاس B طراحی می‌شوند و خطوط نشانه در آن‌ها جهت تسهیل در خوانش سطح مایع دارای طول بیش‌تر می‌باشد که در دو طرف پی‌پت وجود داشته و قابل انطباق است.

در جدول ۶-۱، میزان تولرانس صحت انواع پی‌پت‌ها بیان گردیده است.

Table 1-6: Accuracy Tolerances of Various Types of Pipettes

Volumetric Transfer Pipettes			Measuring & Serological Pipettes	
Tolerances, ±ml*			Tolerances, ± ml	
Capacity (ml)	Class A	Class B	Capacity (ml)	Class B
0.5	0.006	0.012	0.1	0.005
1.0	0.006	0.012	0.2	0.008
2.0	0.006	0.012	0.25	0.008
3.0	0.01	0.02	0.5	0.01
4.0	0.01	0.02	0.6	0.01
5.0	0.01	0.02	1.0	0.02
10.0	0.02	0.04	2.0	0.02
15.0	0.03	0.06	5.0	0.04
20.0	0.03	0.06	10.0	0.06
25.0	0.03	0.06	25.0	0.10
50.0	0.5	0.10		
100.0	0.08	0.16		

Modified from ZDean JA.Analytical chemistry handbook. New York: McGraw- Hill. 1995:1.56.

* Accuracy tolerances for volumetric transfer pipettes are given by ASTM Standard E969.02 «Standard Specification for Glass Volumetric (Transfer) Pipettes», West Conshohocken, PA: American Society for Testing of Material, 2003 and Federal Specification NNN-P-395.

Accuracy tolerances for measuring pipettes are given by Federal Specification NNN-P-350 and for serological pipettes by Federal Specification NNN-P-375.

Class A pipettes are manufactured to the highest tolerances. Class B pipettes have tolerances approximately twice that of Class A pipettes.

ایمنی

- پی‌پت کردن با دهان ممنوع است.
- به‌کارگیری اصول ایمنی کار با وسایل شیشه‌ای

دستورالعمل فنی توزیع‌گر (دیسپنسر)

کلیات

از این وسیله برای تخلیه سریال (متوالی) یک محلول استفاده می‌کنند.

نحوه نگه‌داری

معرف‌هایی که رسوب می‌دهند و یا خورنده هستند نباید در دیسپنسر نگه‌داری شوند. دیسپنسر را باید مرتب تمیز کرد تا عمل پیستون درست انجام شود. توصیه می‌شود ارزیابی حجم تخلیه شده با پرکردن کوچک‌ترین مزور موجود با حجم مشخص از دیسپنسر بررسی گردد.

کنترل کیفی

کنترل کیفی دیسپنسر مشابه سمپلر است.

در امر کنترل کیفی دیسپنسر، پیش از هر اقدامی ابتدا باید با استفاده از ابزار سرویس مربوطه مانند روغن، الکل سفید و میله بازکننده انسدادهای احتمالی، نسبت به سرویس دیسپنسر اقدام نمود. در صورت صحت ساختمان فیزیکی دیسپنسر، کنترل کیفی انجام می‌پذیرد.

بررسی دقت و صحت سالی دو بار به دو روش رنگ‌سنجی و با استفاده از رنگ سبز خوراکی و پارانیتروفنل و روش توزین مشابه سمپلر امکان پذیر است.

برای تعیین میزان عدم صحت و دقت قابل قبول به ادعای شرکت‌های سازنده مراجعه گردد.

برای مطالعه بیشتر و آشنایی با جزئیات کامل روش توزین، به استاندارد ملی ایران isiri 11504-6 و برای روش‌های غیر وزنی به استاندارد ملی ایران isiri 11504-7 مراجعه شود.

دستورالعمل فنی بالن ژوژه

کلیات

فلاسک‌های آزمایشگاهی بر دو نوع هستند که نوع اول آن فلاسک حجمی یا بالن ژوژه و نوع دوم ارلن‌مایر نام دارد. بالن ژوژه از انواع بسیار دقیق وسایل حجمی در آزمایشگاه‌ها است و از ارلن‌مایر بیش‌تر برای ساخت محیط استفاده می‌گردد.

چگونگی کاربری

از بالن ژوژه برای تهیه محلول‌های با غلظت معین استفاده می‌گردد. معمولا بالن ژوژه در حجم‌های ۲۰۰۰-۲۰۰ میلی‌متر وجود دارد. برای خواندن حجم صحیح باید یک کارت مقوایی که نصف آن سفید و نصف دیگر آن سیاه رنگ است را در پشت بالن ژوژه به صورتی که نیمه سفید آن بالا باشد و نیمه سیاه آن یک میلی‌متر زیر مینیسک باشد قرار دهیم. در این حالت مینیسک ایجاد یک خط سیاه نازک می‌نماید که به راحتی حجم آن قرائت می‌گردد. به‌طور کلی باید در نظر داشت که این فلاسک‌ها به‌صورت TC هستند.

در موقع رقیق‌کردن محلول، باید مرتبا محلول مورد نظر را تکان داده تا با یکنواخت‌شدن محلول، خطای افزایش یا کاهش حجم مایعی که برای رقیق کردن لازم است از بین برود.

نحوه نگه‌داری

مشابه پی‌پت است.

کنترل کیفی

- **کنترل صحت**

کنترل صحت با روش‌های وزنی و اسپکتروفتومتری و غیره به شرح زیر صورت می‌گیرد:

۱- روش وزنی: مشابه پی‌پت جرم آب خالص و درجه ۳ (به استاندارد ملی ایران isiri 1728 مراجعه شود) داخل بالن تا خط مینیسک را با توجه به شرایط دمایی و فشار منطقه اندازه بگیرید. این کار را ۳ بار انجام دهید و از فرمول زیر درصد خطا را محاسبه نمایید.

$$\bar{v} = \bar{m}.z$$

$$\text{Bias\%} = \frac{\bar{v} - v}{v} \times 100$$

که در آن:

$\bar{m}$، جرم خوانده شده از ترازو

z، عامل تصحیح جرم

$\bar{V}$، حجم بدست آمده از روش توزین
V، حجم مورد انتظار فلاسک است.

۲- روش اسپکتروفتومتری: با پی‌پت و بالن ژوژه کالیبره کلاس A، رقت مورد نظر از یک ماده رنگی (مثل دی‌کرومات پتاسیم) تهیه کرده و به همین شکل، همان رقت را توسط بالن ژوژه مورد نظر به‌دست آورید. با مقایسه جذب نوری هر دو محلول فوق که در طول موج مناسبی قرائت گردیده، میزان عدم صحت را به‌دست آورید.

توالی زمانی انجام آزمون کنترل صحت مشابه پی‌پت می‌باشد.

- **کنترل دقت**

با توجه به موارد ذکر شده درخصوص پی‌پت، بالن ژوژه نیز نیازی به اندازه‌گیری عدم دقت ندارد.

کالیبراسیون

بهتر است حداقل سالانه یک بار کالیبراسیون بالن ژوژه توسط شرکت‌های معتبر انجام گیرد.

ایمنی

- به علت تغییر حجم و شکسته شدن احتمالی باید از حرارت دادن آن خودداری نمود.
- فلاسک‌های حجمی (بالن ژوژه) را نباید برای نگه‌داری محلول‌های خورنده به‌کار برد.
- درب بالن باید کاملا بسته باشد تا محلول هنگام مخلوط کردن نشت ننماید.

دستورالعمل فنی استوانه مدرج

چگونگی کاربری

استوانه مدرج برای اندازه‌گیری و انتقال محلول در حجم‌های ۱۵۰۰-۱۰۰ میلی‌لیتر به‌کار می‌رود.
در زمان خواندن حجم محلول مصرفی، دیدن پایین‌ترین سطح مایع و استقرار ظرف به‌صورت عمودی الزامی است.

نحوه نگه‌داری، نظافت و ایمنی

مشابه بالن ژوژه و پی‌پت است.

کنترل کیفی

مشابه کنترل کیفی بالن ژوژه و پی‌پت است و باید کنترل صحت آن حداقل در چهار حجم مختلف صورت پذیرد.

دستورالعمل فنی لوپ (میل حلقه)

کلیات

لوپ معمولا برای انتقال حجم مشخصی از محلول حاوی میکروب به محیط کشت به کار می‌رود تا بتوان کلنی (پرگنه)های رشد یافته را شمارش کرد. کنترل کیفی و در صورت نیاز، ساختن لوپ در بخش میکروب‌شناسی و توسط مسئول بخش صورت می‌گیرد.

چگونگی کاربری

لوپ میکروب‌شناسی از جنس‌های متفاوت ساخته می‌شود و معمول‌ترین آن‌ها پلاتین، نیکل و کروم است. به‌طور کلی لوپ باید از جنس فلز باشد که به سادگی شکل‌پذیر بوده و در اثر سرد و گرم شدن مکرر خراب نمی‌شود. سرلوپ باید به شکل دایره پیچیده شود و در محل تماس شروع دایره و میله نباید فاصله ایجاد شود.

با توجه به اینکه علاوه بر قطر دایره سر لوپ عوامل دیگری هم‌چون جنس لوپ و قطر میله مورد استفاده در تعیین گنجایش حلقه موثر می‌باشند، اندازه‌گیری ظرفیت حجمی‌لوپ (کنترل صحت آن) در شروع و ادامه کار لازم است. هم‌چنین با توجه به تغییر قطر لوپ در استفاده‌های بعدی، در فواصل زمانی مناسب باید نسبت به تعویض آن اقدام شود.

در حال حاضر لوپ‌های با حجم مشخص به‌صورت آماده نیز وجود دارد که می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

لوپ را باید به طور عمودی وارد محلول کرد زیرا به علت کشش سطحی مایعات در صورت غیرعمود بودن حجم مایع حلقه به طور کاذب تغییر می‌کند.

کنترل کیفی لوپ

- **کنترل صحت یا روش تعیین حجم لوپ**

استفاده از لوپ استاندارد با حجم معین جهت شمارش کلنی‌های به دست آمده از کشت نمونه‌های بالینی به ویژه ادرار به منظور تشخیص عفونت واقعی ضروری است. لذا آزمایشگاه‌ها همواره باید از لوپ‌های کالیبره جهت کشت نمونه‌های ادراری استفاده نمایند و به کمک آن تعداد کلنی‌های موجود در هر میلی‌لیتر ادرار (CFU/mL) را محاسبه و گزارش کنند.

برای بررسی حجم لوپ از روش‌هایی مانند رنگ‌سنجی، توزین و مقایسه آنالیت خاص توسط لوپ و سمپلر کالیبره، استفاده می‌شود.

الف) روش رنگ‌سنجی

ساده‌ترین روش برای بررسی حجم لوپ استفاده از روش رنگ‌سنجی با استفاده از اسپکتروفتومتر یا فتومتر به کمک مواد رنگی مانند متیلن‌بلو، کریستال‌ویوله و اوانس‌بلو است. در این بخش روش

رنگ‌سنجی با استفاده از اوانس‌بلو و مقایسه حجم منتقله توسط لوپ با سمپلر توضیح داده می‌شود. در صورت استفاده از سایر مواد رنگی، بایستی طول موج و جذب نوری ویژه همان ماده به‌کـار بـرده شود.

۱- مقایسه حجم منتقله توسط لوپ با سمپلر استاندارد و کالیبر شده به روش رنگ‌سنجی

در پنج لوله تمیز و خشک ۳ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و با لوپ مجهول از یک محلول رنگی (رنگ سبز خوراکی، سافرانین رقیق شده، بلودومتیلن، اوانس بلو و غیره) با رعایت نکات ذکر شده، رنگ مورد نظر را به هر یک از آن لوله‌ها اضافه کنید. با همین روش نیز با کمک سمپلر هم حجم لوپ در پنج لوله حاوی ۳ میلی‌لیتر آب مقطر محلول رنگی فوق را اضافه کنید. حال با اندازه‌گیری میانگین جذب آن‌ها در طول موج مشخص (مثلا۶۳۰nm برای رنگ سبز خوراکی) و استفاده از رابطه زیر:

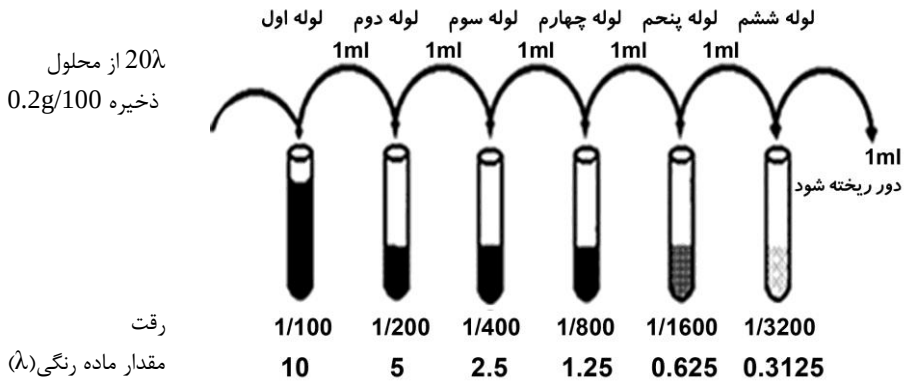
حجم سمپلر / میانگین جذب سمپلر = حجم لوپ/ میانگین جذب لوپ

حجم لوپ را به دست آورید.

۲- تعیین ضریب رقت لوپ با استفاده از ماده رنگی اوانس بلو

ابزار و مواد مورد نیاز تعیین حجم لوپ با استفاده از ماده رنگی اوانس بلو

- پودر اوانس‌بلو (Evans Blue)، این ماده به‌صورت پودر تجاری قابل دسترس بوده و به‌آسانی در آب حل می‌شود.
- آب مقطر
- لوله آزمایش
- پی‌پت یا سمپلر
- اسپکتروفتومتر یا فتومتر کالیبره
- کاغذ میلیمتری



شکل ۵-۱: میزان رقت و حجم ماده رنگی در عملیات رقیق‌سازی

روش انجام

۱- ۲۰ میلی‌گرم از پودر رنگی اوانس بلو را در ۱۰ میلی‌لیتر آب حل نمایید. غلظت این محلول ۰/۲g/۱۰۰ می‌باشد.

۲- ۶ لوله آزمایش انتخاب کرده، در لوله اول ۲ میلی‌لیتر و در هر یک از لوله‌های باقیمانده ۱ میلی‌لیتر آب مقطر بریزید. ۲۰ لاندا (۰/۰۲ میلی‌لیتر) از محلول ذخیره اولیه (۰/۲g/۱۰۰) برداشته در لوله اول ریخته و کاملا مخلوط نمایید. سپس ۱ میلی‌لیتر از لوله اول برداشته و در لوله دوم بریزید، از لوله دوم، در لوله سوم و این عمل را تا آخر ادامه دهید. در انتها یک میلی لیتر از لوله ششم را برداشته و دور بریزید. به این ترتیب ۶ محلول خواهید داشت که رقت نهایی بدست آمده در هر یک و میزان ماده رنگی موجود در آن‌ها در شکل ۵-۱ نشان داده شده است.

۳- میزان جذب نوری (OD) هر یک از ۶ محلول حاصله را به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۰ nm به‌دست آورید.

۴- جهت تعیین حجم لوپ مورد بررسی، ۱۰ لوله آزمایش برداشته و در هر یک ۱ میلی‌لیتر آب مقطر بریزید.

۵- لوپ تحت کنترل را بطور کاملا عمودی وارد محلول ذخیره اولیه نموده، از محلول رنگی برداشته و در لوله‌های آزمایش فرو برید. این کار را ۱۰ بار تکرار و در فواصل لوپ را روی کاغذ خشک کن قرار دهید تا کاملا خشک شود. از سوزاندن لوپ خودداری نمایید.

۶- بعد از مخلوط کردن، جذب هریک از لوله‌ها را در طول موج ۶۲۰ nm قرائت نمایید.

۷- بر روی کاغذ میلی‌متری نموداری ترسیم نمایید که در آن، محور افقی نشانگر رقت‌های تهیه شده و محور عمودی نمایانگر جذب نوری هر رقت باشد.

۸- با قرار دادن میانگین جذب بدست آمده از لوپ کنترلی، روی محور عمودی می‌توان ضریب رقت لوپ کنترلی را از روی محور افقی بدست آورد.

جهت تعیین تعداد کلنی در هر میلی‌لیتر ادرار، باید تعداد کلنی‌های بدست آمده از کشت روی پلیت را در عکس ضریب رقت لوپ، ضرب کرد. بطور مثال اگر ضریب رقت لوپ مجهول ۱/۱۰۰ و تعداد کلنی‌های روی پلیت ۵۰۰ عدد باشد، باید ۵۰۰ را در ۱۰۰ ضرب و نتیجه را بصورت ۵۰/۰۰۰ cfu/ml گزارش نمود.

ب) روش توزین

علاوه بر روش رنگ‌سنجی، یکی دیگر از روش‌هایی که برای بررسی میزان حجم برداشتی توسط لوپ باکتریولوژی وجود دارد، روش توزین است که در آن با استفاده از ترازوی بسیار حساس، تغییرات وزن دیسک کاغذی بعد از افزدون یک لوپ آب مقطر روی آن، محاسبه می‌گردد.

برای مطالعه بیش‌تر به کتب و منابع معتبر از جمله Diagnostic microbiology, Elmer W.Koneman, 5th edition, page 96 مراجعه شود.

ج) مقایسه سطح اندازه‌گیری شده آنالیت خاص توسط لوپ و سمپلر کالیبره

در ادامه تعیین ضریب لوپ به روش مقایسه سطح اندازه‌گیری شده قند خون توسط لوپ و سمپلر کالیبره بیان می‌شود.

- **روش انجام کار**

در پنج لوله تمیز هر کدام ۱ میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری قند ریخته و با لوپ مجهول با رعایت نکات لازم و ملاحظات ایمنی، استاندارد قند و یا یک نمونه سرم را به لوله‌ها منتقل کنید. سپس با همین روش و با استفاده از سمپلر استاندارد و کالیبر شده مقدار ۱۰ میکرولیتر از همان نمونه (استاندارد یا سرم) را به ۵ لوله دیگر منتقل نمایید.

میانگین جذب نوری را برای هر گروه از لوله‌ها در طول موج مشخص شده در کیت به دست آورده و با استفاده از رابطه زیر ضریب لوپ را مشخص نمایید.

میانگین جذب نوری لوپ/ میانگین جذب نوری سمپلر × ۱۰۰ = ضریب

نحوه نگه‌داری و تعمیرات

به محض مشاهده شکاف در محل اتصال حلقه یا تغییر قطر سیم لوپ باید آن را تعویض کرد.

ایمنی

- در موقع سترون کردن لوپ باید از قراردادن سریع آن بر روی شعله به علت ایجاد ذرات آئروسل خودداری کرد.

بهتر است ابتدا لوپ به قسمت قاعده شعله (که پایین‌ترین درجه حرارت شعله را داراست) وارد شده و تدریجا به نوک شعله انتقال یابد.

- هم‌چنین از داخل کردن لوپ داغ به داخل سوسپانسیون میکروبی نیز باید اجتناب نمود.

دستورالعمل فنی فلیم فتومتر (نورسنج شعله‌ای)

کلیات

دستگاهی است که جهت اندازه‌گیری فلزاتی مانند: کلسیم، سدیم، پتاسیم، لیتیم و باریم بکار می‌رود. فلیم فتومتر شبیه اسپکتروفتومتر و یا فتومتر ساده است، با این تفاوت که در فتومتر، لامپ الکتریکی، و در فلیم فتومتر نور حاصل از شعله بعنوان منبع نور استفاده می‌شود. هم‌چنین فتومتر یا اسپکتروفتومتر، میزان نور جذب شده توسط محلول را اندازه‌گیری می‌نماید، در حالی‌که فلیم فتومتر نور حاصل از سوختن فلز را مستقیماً اندازه‌گیری می‌کند. فیلترهای انتخابی برای فلزات مختلف عبارتند از:

۶۷۱ نانومتر برای لیتیوم

۵۸۹ نانومتر برای سدیم

۷۶۸ نانومتر برای پتاسیم

اجزای دستگاه فلیم فتومتر

۱- منبع نور (شعله) و نبولایزر، شامل بخش مکنده است که نمونه مورد آزمایش بوسیله آن وارد شعله می‌شود.

۲- فیلتر و عدسی‌ها

۳- دتکتور (فتوسل)

۴- نمایشگر و چاپگر

۵- کمپرسور هوا

۶- منبع گاز

اساس کار فلیم فتومتر

هنگامی که نمک‌های فلزی (metallic salts) در داخل شعله گداخته می‌شوند، انرژی گرمایی جذب اتم فلز می‌شود و سبب می‌گردد تا یک یا تعداد بیش‌تری الکترون از اربیتال خود خارج شوند، زمانی که الکترون‌های مذکور به سطح الکترونی خود بر می‌گردند نوری از خود ساطع می‌نمایند که مختص آن فلز است، به‌عبارت دیگر طیف نشری هر فلز منحصر بفرد است.

روش اندازه گیری در فلیم فتومتر

در فلیم فتومتر، نمونه را می‌توان به دو طریق اندازه‌گیری کرد:

۱- روش مستقیم: در این روش نوری را که از عناصری مثل سدیم ساطع می‌شود به وسیله نورسنج (فتوسل) و الکتریک سنج (گالوانومتر) اندازه‌گیری می‌کنند. با در دست داشتن منحنی استاندارد

مقدار عنصر مورد نظر تعیین می‌شود. این طریق اندازه‌گیری معمولا در دستگاهی که شعله شدید به‌کار رفته مرسوم است.

۲- روش مقایسه‌ای: در این روش ماده مورد آزمایش را با نور ماده‌ای که به عنوان استاندارد داخلی مصرف می‌شود، مقایسه می‌کنند. استفاده از استاندارد داخلی برای رفع اشکالاتی است که از تغییرات شدت و میزان شعله به وجود می‌آید، به این ترتیب که مقدار معینی از ماده‌ای که در نمونه وجود ندارد به استاندارد سرم کنترل و بلانک و نمونه مورد آزمایش اضافه می‌کنند. در اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم استاندارد داخلی لیتیوم است (نیترات و سولفات لیتیوم). لیتیوم نوری با طول موج ۶۷۰ میلی‌میکرون ایجاد می‌کند که به آسانی می‌توان آن را از امواج سدیم و پتاسیم جدا کرد. این روش معمولا در دستگاه‌هایی که شعله ملایم ندارند مرسوم است. در این روش نور نمونه با نور استاندارد مقایسه می‌شود (مثل سیستم دو پرتوی در دستگاه اسپکتروفتومتر). بدین ترتیب تغییرات حرارت و شعله و اتمیزه کردن و تغییرات فشار گازها و نوسانات ولت برای هر دو عنصر یکسان است. برای روشن شدن این مطلب سدیم و لیتیم را در نظر بگیرید. چنانچه سیستم اتمایزر دچار اشکال شود، مقدار سدیم و لیتیوم که به شعله می‌رسد به یک نسبت تغییر می‌کند ولی تغییرات شدت نور برای هر دو عنصر یکسان نخواهد بود چون انرژی جهت تهییج شدن برای دو عنصر صددرصد یکسان نیست. خواص فیزیکی و شیمیایی لیتیوم شبیه سدیم و پتاسیم است. شدت تهییج شدن آن هم حدودا شبیه سدیم و پتاسیم است.

چگونگی کاربری

چگونگی کاربری درهر آزمایشگاه باید طبق کتابچه راهنمای دستگاه تدوین گردد.

نحوه نگه‌داری

* نمونه‌ها باید همگن بوده و غلیظ نباشد.
* کارایی دستگاه باید با کالیبراتور و سرم کنترل چک شود.
* مخزن گاز باید کنترل شود.
* کمپرسور هوا باید توسط کارخانه تنظیم شود و کاربر یا تنظیم آن را تغییر ندهد و یا در صورت نیاز مطابق دستورالعمل کارخانه آن را تنظیم نماید.
* بعد از هر سری اندازه‌گیری، لوله‌ها و نبولایزر باید با مکش آب و محلول خود دستگاه تمیز شود.
* از آب مقطر تازه برای رقیق کردن نمونه‌ها استفاده شود.
* مخزن مواد زائد روزانه تخلیه شود.
* مشعل و فیلترهای دستگاه هر شش ماه یک‌بار توسط سرویس‌کار مربوطه تمیز و کنترل شود.

کنترل کیفی

کنترل داخلی کیفیت مشابه دیگر روش‌های کمی با کنترل صحت و دقت انجام می‌گیرد.

- کنترل صحت: با استفاده از نمونه‌های دارای مقادیر مشخص Na ، K و Li و مقایسه مقادیر اندازه‌گیری شده با مقادیر مورد انتظار با استفاده از فرمول زیر میزان عدم صحت بدست می‌آید:

  ۱۰۰×{ عدد مورد انتظار / (عدد بدست آمده – عدد مورد انتظار)} = میزان عدم صحت (٪)
- کنترل دقت: از یک نمونه ۲۰ بار مقادیر Na ، K و Li اندازه‌گیری می‌شود که بهتر است این کار در ۵ روز کاری انجام شود و مقدار X، SD وCV محاسبه می‌شود.CV قابل قبول برای لیتیوم ۱/۵٪ و برای سدیم ۰/۵٪ و پتاسیم ۱/۵ -۰/۵٪ است. عدم دقت معمولا با تکرار نمونه چند بار در روز و یا تکرار یک نمونه در چند روز تعیین می‌گردد. با استفاده از نمونه‌های سرم کنترل منحنی‌های مربوطه رسم و براساس نتایج، تصمیم‌گیری صورت می‌گیرد.
- بازبینی شعله: با محلول آب خالص درجه I باید شعله کاملا آبی باشد که نشان‌دهنده کالیبر بودن شعله است.
- کنترل عدم پایداری: مشابه اسپکتروفتومتر است. عقربه فلیم را با آب مقطر در وسط تنظیم کرده و پس از ۱۵ دقیقه، میزان انحراف عقربه را کنترل کنید که پس از این مدت نباید هیچ‌گونه رانشی (drift) داشته باشید.

ایمنی

پس از پایان کار ابتدا منبع گاز را بسته و سپس دستگاه خاموش گردد.

دستورالعمل فنی میکروسکوپ

چگونگی کاربری

پس از گذاشتن لام روی صفحه مخصوص میکروسکوپ و روشن نمودن دستگاه از عدسی (لنز) X۱۰ به منظور بررسی کل لام از نظر پراکندگی یکنواخت سلولی، یافتن انگل در گستره خون و کنترل آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز در انتقال خون؛ از عدسی X۴۰ برای بررسی عادی گستره، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، شناسایی مرفولوژی سلول غیرطبیعی، مشاهده پلاسمودیوم و سایر انگل‌های خونی؛ از عدسی X۱۰۰ برای دیدن انکلوزیون‌های کوچک گلبول‌های قرمز (مانند هاول جولی بادی)، شناسایی نوع پلاسمودیوم و تعیین مرفولوژی گلبول سفید استفاده می‌شود. استفاده از این عدسی جهت کار روزمره سرعت کار را کند می‌کند و نیاز به روغن دارد.

نحوه نگه‌داری

* میکروسکوپ باید در یک محیط تمیز نصب شود که دور از مواد شیمیایی، نور مستقیم خورشید، منبع حرارت یا رطوبت باشد. اگر صفحه قرارگیری لام با سالین یا KOH آلوده شود باید فوری تمیز گردد تا از خوردگی جلوگیری شود. رطوبت و دمای بالا باعث رشد قارچ‌ها شده که می‌تواند به سطوح اپتیک آسیب برسانند. نگه‌داری در یک محیط بسته باعث رشد قارچ می‌شود. در آب و هوای مرطوب نیاز به مصرف مواد خشک کننده مثل کلرید کلسیم در یک محیط کوچک داریم.
* بعد از استفاده از عدسی X۱۰۰ یا غوطه‌وری (ایمرسیون) باید آن را توسط ورقه عدسی، یا کاغذ جاذب یا پارچه نرم یا پنبه بدون کرک پاک کنید. سایر عدسی‌ها (چشمی و شیئی) را که آلوده به روغن شده‌اند، باید با کمی محلول تمیز کننده شامل دی اتیلن اتر ۷۰٪ و اتانول ۳۰٪ پاک کرد.
* عدسی‌ها نباید در الکل گذاشته شوند چون داربست آن‌ها حل می‌شود. سایر قسمت‌ها با یک دترژان خفیف پاک شود. روغن و چربی ابتدا توسط اترپترولئوم و سپس محلول ۴۵٪ اتانول در آب مقطر تمیز شود.
* اگر داخل عدسی چشمی نیز غبار رفته باشد باید باز و تمیز گردد.
* درصورت نیاز، کندانسور و عدسی دیافراگم با پارچه نرم آغشته به گزیلل یا تولوئن تمیز شود. آینه با پارچه آغشته به الکل ۹۵٪ تمیز شود. مراقب باشید دیافراگم بسیار حساس بوده و اگر آسیب ببیند معمولا تعمیر نمی‌شود.
* بخش‌های مکانیکی متحرک باید به سهولت حرکت کنند. اگر هر قسمتی با سختی جابجا شود، نیاز به روغن کاری دارد. باید روغن مکانیکی مناسب باشد چون روغن گیاهی خشک شده و سفت می‌گردد. این کار برای پیچ تنظیم coarse، پیچ تنظیم fine، حرکت کندانسور و صفحه

لام به کار می‌رود. توصیه می‌شود به طور مرتب قسمت‌های متحرک تمیز و روغن‌کاری شود. این لغزندگی نه تنها باعث حرکت روان قسمت‌ها شده بلکه ساییدگی را کاهش داده و از خوردگی جلوگیری می‌کند. سطح ثابت صفحه لام باید خشک نگه‌داشته شود پس اگر لامی خیس باشد به سختی حرکت می‌کند و به صفحه لام فشار آورده و آن را خراب می‌کند.

کالیبراسیون

در هنگام خرید دستگاه جدید، توسط شرکت پشتیبان صورت می‌گیرد ولی در صورتی‌که کاربر مهارت در کالیبراسیون دستگاه را داشته باشد، به روش زیر عمل می‌شود:

روشن سازی

یـک لام (بـا لامل) روی صفحه لام قـرار داده، عدسی X۱۰ را انتخاب کرده و مراحل زیر را انجام دهید:

۱- تمرکز منبع نور

- با آینه:

از سطح صاف آینه استفاده کنید. دیافراگم را حداکثر باز کنید. کندانسور را بالا ببرید. یک تکه کاغذ سفید نازک در بالای کندانسور روی عدسی قرار دهید. این کاغذ باید تصویری از لامپ الکتریکی را نشان دهد که توسط حلقه‌ای از نور احاطه شده باشد. آینه را طوری تنظیم کنید تا تصویر لامپ درست در مرکز حلقه نور قرار بگیرد. در صورتی‌که از روشنایی محیط استفاده می‌شود آینه را طوری تنظیم کنید که روشن‌ترین قسمت نور در مرکز قرار بگیرد.

- با نور توکار (لامپ)

نور را با پیچ تنظیم در وسط قرار دهید تا نتایج بالا به دست آید.

۲- تمرکز کندانسور

کندانسور را پایین قرار دهید. دیافراگم را باز کنید. لام را با عدسی X۱۰ امتحان کنید. تصویر را میزان کنید. دیافراگم را ببندید. یک حلقه کدر نور که توسط دایره‌ای تاریک احاطه شده در میدان ظاهر می‌شود. به آهستگی کندانسور را بالا ببرید تا حلقه نور میزان شده و لبه آن کاملا واضح و شارپ شود. اگر لازم است محل آینه را تنظیم کنید تا حلقه نور درست در وسط یا روی منطقه روشن محاط با تاریکی بیافتد. پیچ کندانسور را بالا ببرید تا حلقه نور درست در مرکز میدان باشد. (در برخی از میکروسکوپ‌ها صفحه لام (stage) توسط پیچ بالا و پایین می‌رود در این‌صورت با حرکت صفحه لام تصویر را میزان کنید).

۳- تنظیم دیافراگم

دیافراگم را به طور کامل باز کنید. عدسی چشمی را در آورده و از لوله نگاه کنید. میدان را با یک حلقه نور می‌بینید. آهسته دیافراگم را ببندید تا حلقه نور فقط دو سوم میدان را بپوشاند.

نحوه میزان کردن عدسی شیئی

- استفاده از عدسی (X۱۰)

کندانسور را تا انتها پایین ببرید. عدسی شیئی را آنقدر پایین بیاورید تا درست روی لام قرار بگیرد. با کمک پیچ بزرگ‌تر، عدسی را بالا ببرید تا یک تصویر واضح دیده شود. اگر واضح نشد پیچ کوچک‌تر را در خلاف جهت تا ته بچرخانید. اگر باز هم تصویر واضح نشد کندانسور را کمی بالا ببرید.

- استفاده از عدسی (X۴۰)

کندانسور را تا وسط پایین بکشید. عدسی شیئی را تا روی لام پایین بیاورید. با کمک پیچ بزرگ‌تر، عدسی را بالا ببرید تا یک تصویر تار در میدان دیده شود. با پیچ کوچک‌تر آن را واضح کنید. اگر نشد کندانسور را برای روشنایی مناسب بالا ببرید.

- استفاده از عدسی X۱۰۰ (غوطه وری):

بهتر است، لام رنگ شده و خشک به کار برید. یک قطره روغن در محل مورد نظر بگذارید (از روغن مصنوعی استفاده کنید تا خشک نشود چون روغن چوب سدر به سرعت خشک می‌شود). کندانسور را تا جایی که ممکن است بالا ببرید. عدسی X۱۰۰ را به طرف لام پایین آورید تا در تماس با روغن قرار گیرد ولی فشار ندهید. به کمک پیچ کوچک‌تر تصویر را میزان کنید.

لام و لامل

فاصله کاری عدسی، فاصله بین عدسی و چیزی است که باید دیده شود. هر قدر قدرت بزرگنمایی عدسی بیشتر باشد این فاصله کمتر است (جدول ۷-۱). اگر لامل خیلی ضخیم باشد در درشتنمایی بالا نمی‌توان تصویر را میزان کرد.

جدول ۷-۱: رابطه فاصله کاری و عدسی شیئی

عدسی شیئی	فاصله کاری
X۱۰	۶-۵ میلیمتر
X۴۰	۱/۵-۰/۵ میلیمتر
X۱۰۰	۰/۲۰-۰/۱۵ میلیمتر

بنابراین در بررسی با عدسی X۱۰۰ لامل نباید ضخیم‌تر از ۰/۱۵ میلی‌متر باشد. مسلما اگر لام Mount نشده باشد و لامل نداشته باشد، در بررسی با روغن غوطه وری چنین مشکلی مطرح نخواهد بود.

غوطه وری (ایمرسیون) با روغن

وقتی پرتو نور از هوا گذر کرده و به شیشه می‌رسد می‌شکند و وقتی از شیشه به هوا بر می‌گردد دوباره پرتو نور شکسته و به جای اول خود بر می‌گردد. این موضوع در درشتنمایی کم اثر زیادی

ندارد، اما در درشتنمایی بالا این شکست نور نه تنها باعث محدودیت میزان نوری است که به عدسی می‌رسد بلکه باعث محدودیت قدرت عدسی می‌شود. این شکست نور و محدودیت‌های آن را با کمک روغن و حذف هوای بین عدسی شیئی و لام تنظیم می‌کنیم، چون خاصیت اپتیک روغن مثل شیشه است. بدین ترتیب به جای اینکه نور از شیشه به هوا رفته و بشکند و دوباره از هوا به شیشه برگردد گویی تماما از شیشه عبور کرده است.

درخشندگی

در مباحث بالا نحوه تنظیم نور میکروسکوپ مشخص شد. عدم موفقیت در هر مرحله منجر به بروز درخشندگی و تداخل آن با ایجاد یک تصویر خوب می‌شود. علل درخشندگی را باید رفع کرد:

- اشعه نوری که خارج از میکروسکوپ به چشم می‌رسد:

(نور پنجره یا هر منبع نور در اتاق)، این مسئله را می‌توان با قرار دادن میکروسکوپ در محل تاریک یا کم نور اتاق رفع کرد. اگر ممکن نبود به کمک یک سایه‌بان برای چشم این درخشندگی را حذف می‌کنیم.

- منبع نور بزرگ‌تر از آنچه مورد نیاز است:

(مقدار نور بیش‌تر از نور مورد نیاز عدسی شیئی باشد)، این مشکل را با استفاده از منبع نوری که فقط میدان دید را روشن نماید رفع می‌کنیم. پس برای هر عدسی یک منبع نور لازم داریم. منبع نور بزرگ برای درشتنمایی کم و منبع نور کم برای درشت‌نمایی زیاد.

- کندانسور، با شکاف بزرگ‌تر از آنچه مورد نیاز است:

(کندانسوری که نور زیاد به عدسی شیئی می‌دهد)، این مسئله را با افزایش کنتراست در میکروسکوپ حل می‌کنیم ولی باعث هدر رفتن قدرت می‌شویم و اگر منابع دیگر درخشندگی محدود شود شکاف کندانسور نیاز به کاهش زیاد ندارد.

- انعکاس به عقب و جلو در نمونه بین لام و لامل یا هوای بین نمونه و عدسی شیئی:

باعث درخشندگی شده و با انتخاب مونته مناسب مثل روغن، کانادا بالزام یا مواد مونته خنثی می‌توان آن را کاهش داد. اگر لامل را حذف کنید و روغن غوطه‌وری به کار برید انعکاس کم شده و درخشندگی، کاهش می‌یابد.

- اشعه نور در داخل عدسی شیئی، لوله میکروسکوپ یا چشمی:

که رفع این مشکل نیاز به فرد متبحر یا سازنده میکروسکوپ دارد.

ایمنی

- سیم برق دستگاه پس از استفاده و خاموش‌کردن آن از پریز جدا گردد.

دستورالعمل فنی سانتریفیوژ

کلیات

سانتریفیوژ دستگاهی است که با اعمال نیروی سانتریفوگال بر روی ذرات در حال دوران (نیروی گریز از مرکز)، اجزای یک محلول را که دارای جرم مولکولی متفاوت هستند از هم جدا می‌کند، لذا در تهیه ته‌نشین ادرار، جداکردن سرم، تهیه فیلترای فاقد پروتئین و موارد دیگر از آن استفاده می‌گردد. در انتخاب سانتریفوژ مقدار Relative Centrifugal Force (RCF) مهم است. انواع مختلفی از سانتریفیوژ در بازار موجود می‌باشد، چهار مدل اصلی آن عبارتند از:

۱- Horizontal Head (Swinging Bucket)

لوله‌ها در حالت استراحت بصورت عمودی در جایگاه قرار داده می‌شوند و در طی چرخش، لوله‌ها در وضعیت افقی قرار می‌گیرند. این نوع برای جداسازی سرم و پلاسما از گلبول‌های قرمز مناسب است.

در صورت کاربرد دور و زمان لازم، سدیمان بخوبی فشرده شده و می‌توان سوپرناتانت را با آهسته خالی کردن (سرازیر نمودن آهسته) خارج کرد.

۲- Angle Head (Fixed – Head)

لوله‌ها در وضعیت ثابت و در زاویه حدود ۴۰-۲۵ درجه از وضعیت افقی قرار می‌گیرند، ذرات در هنگام چرخش به سمت بیرون پرتاب شده و به کناره و ته لوله می‌چسبند. شکل آئرودینامیکی دستگاه به صورتی است که نسبت به نوع افقی امکان ته‌نشین شدن سریع ذرات ریز را فراهم می‌نماید. با این حال سدیمان از فشردگی کمتری برخوردار است.

این نوع، می‌تواند سرعت بیش‌تری نسبت به نوع افقی داشته باشد ولی مقاومت قابل ملاحظه در مقابل چرخش و اصطکاک با هوا، در آن گرما تولید می‌کند.

۳- Axial Separation

در این نوع سانتریفیوژ لوله حاوی خون ابتدا در وضعیت عمودی قرار داده می‌شوند. لوله‌ها مجهز به یک صفحه جداکننده متحرک پلاستیکی می‌باشند، در هنگام چرخش لوله‌ها به‌صورت افقی درآمده و با استفاده از پروپ دستگاه سانتریفیوژ که امکان خروج هوا از مرکز آن وجود دارد، سرم یا پلاسما توسط صفحه جدا کننده از گلبول‌ها جدا می‌شوند. کل مراحل کمتر از ۷۰ ثانیه طول می‌کشد.

۴- اولترا سانتریفیوژ

سانتریفیوژهایی با سرعت بالا بوده که نیروی کششی (g) درحد صدها هزار تولید می‌کنند. اغلب آن‌ها fixed–head می‌باشند. در آزمایشگاه بالینی بیش‌تر برای جداسازی لیپوپروتئین‌ها و در بانک خون به کار می‌روند. چون جداسازی ممکن است نیاز به ساعت‌ها یا روزها زمان داشته و در نتیجه دمای زیاد ایجاد شود، این نوع سانتریفیوژ باید مجهز به اتاقک یخچال‌دار باشد.

چگونگی کاربری

سانتریفیوژ باید دور از میکروسکوپ و ترازو به صورت کاملا افقی در وسط سکو یا میز آزمایشگاهی (دور از لبه ها) قرار گیرد. لوله‌ها به طور موازنه (از نظر وزنی) مقابل هم در داخل جایگاه لوله‌ها (Bucket) قرار گیرند. توسط پیچ مخصوص ساعت، زمان لازم و پیچ مخصوص گردش، دور لازم به دستگاه داده می‌شود و با فشار دکمه start دستگاه شروع به کار کرده و پس از پایان به طور خـودکار خاموش خواهد شد. برای جدا کردن سرم می‌توان از قدرت 1000-g به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه استفاده نمود. به منظور جلوگیری از بروز همولیز باید از سانتریفیوژ نمونه‌های خونی به مدت طولانی پرهیز نمود.

نکته: در مورد حجم مجاز مایع در لوله‌ها در حین تراز کردن آن‌ها در مقابل هم به بروشور دستگاه مراجعه شود، اما به‌طور معمول اختلاف وزن آن‌ها نباید بیش از ۱٪ باشد. در سانتریفیوژهای جدید در صورت عدم بالانس لوله‌ها، سرعت به صورت خودکار کاهش می‌یابد اما در سایر سانتریفیوژها تکان، ارتعاش و یا صدای ناهنجار ایجاد می شود.

نحوه نگه‌داری

* پیچ تنظیم سرعت باید به آرامی چرخانده شود.
* در صورت استفاده مکرر از سانتریفیوژ در طول روز، باید در فواصل زمانی کوتاه (ترجیحا روزانه) با محلول هیپوکلریت سدیم با رقت ۱٪ تمیز شود.
* بازدید ذغال هر سه ماه یک‌بار و commutators (سویگرها) هر ۶ ماه انجام شود.
* دستگاه سالی یک‌بار نیاز به سرویس توسط شرکت پشتیبان دارد.

کنترل کیفی

برای انجام کنترل کیفی سانتریفیوژ لازم است دور، زمان و دمای آن بررسی شود که به طور خلاصه به شرح آن می‌پردازیم. لازم به ذکر است که سرعت دستگاه و زمان‌سنج آن باید در شرایط مشابه بررسی گردد و در صورت تغییر قابل توجه در آن‌ها با شرکت پشتیبان تماس حاصل شود.

محدوده مجاز تغییرات به صورت زیر است.

اختلاف دور ۵٪± , اختلاف زمان ۱۰٪± , اختلاف دما ۲°C ±

اندازه‌گیری دور در دقیقه

هدف از اندازه‌گیری دور در دقیقه سانتریفیوژ، محاسبه نیروی نسبی سانتریفیوژ می‌باشد که بستگی مستقیم به تعداد دور در دقیقه دارد. نیروی نسبی سانتریفیوژ (RCF) از فرمول زیر و یا با کمک نمودار ۲-۱ به دست می‌آید.

$$RCF(g)=۱/۱۱۸\times۱۰^{-۵}\times r\times(RPM)^{۲}$$

RCF : نیروی نسبی سانتریفیوژ Relative Centrifugal Force

r : طول محور سانتریفیوژ تا انتهای لوله برحسب سانتی‌متر یا شعاع سانتریفیوژ

RPM : دور در دقیقه (Round Per Minute)

بنابراین برای محاسبه RCF با واحد g، ابتدا بایست Round Per Minute (RPM) را به‌طور دقیق محاسبه کنید. برای اندازه‌گیری واقعی دور سانتریفیوژ در دقیقه از تاکومتر، خط‌کش و برچسب مخصوص استفاده می‌شود. کنترل دور سانتریفیوژ معمولا هر ماه ضروری است.

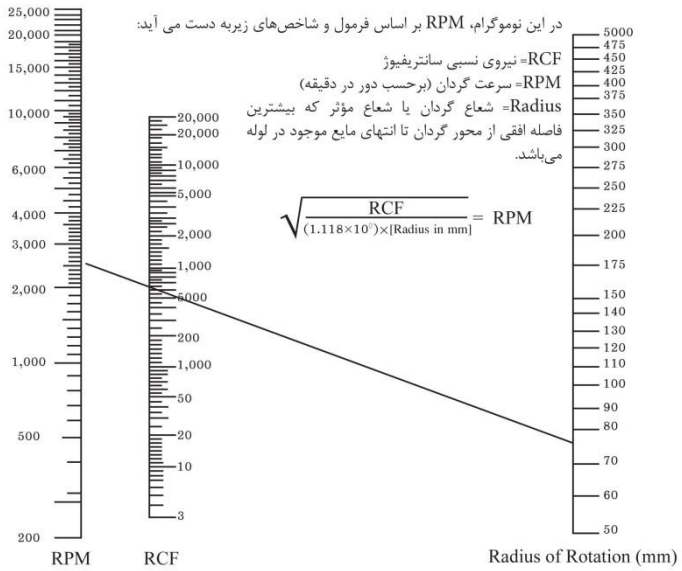
توسط تاکومتر RPM را به دو طریق نوری و تماسی می‌توان بدست آورد. مراحل انجام اندازه‌گیری RPM توسط تاکومتر به روش نوری به شرح زیر می‌باشد.

۱- ابتدا کاغذ منعکس‌کننده (Indicator) را که همراه دستگاه تاکومتر می‌باشد، نزدیک محور سانتریفیوژ بچسبانید.
۲- سانتریفیوژ را در دور مشخص تنظیم نموده و آن را روشن کنید.
۳- تاکومتر را در حدود ۵۰ تا ۱۵۰ میلی‌متری محور سانتریفیوژ قرار دهید.
۴- دکمه اندازه‌گیری تاکومتر را فشار دهید.
۵- پس از آن که تاکومتر به مدت ۲ ثانیه عدد ثابتی را نشان داد، عدد مذکور را یادداشت کرده و دکمه را رها نمایید. این عدد معادل RPM می‌باشد.

دور اندازه گرفته شده نباید بیش از ۵٪ با دور تنظیم شده تفاوت داشته باشد، در غیراین‌صورت باید تصحیح شود.

برای اندازه‌گیری شعاع سانتریفیوژ از محور تا جایگاه لوله‌ها را با خط‌کش اندازه‌گیری کنید که در سانتریفیوژ افقی باید از مرکز تا آخر جایگاه لوله اندازه‌گیری شود.

همانطور که در بالا بیان شد RPM سانتریفیوژ بایستی به روش فوق در دوره زمانی مشخص کنترل شود. اما اگر بخواهید مقدار RPM را براساس میزان RCF مورد نیاز و طول محور محاسبه، به‌دست آورید، می‌توان با استفاده از نمودار ۲-۱ این کار را انجام داد.



نمودار ۲-۱: نموگرام تعیین RPM براساس شعاع و نیروی نسبی سانتریفیوژ

کنترل زمان‌سنج

تایمر یا زمان‌سنج سانتریفیوژ باید هفتگی مرتباً در مقابل کرونومتر کالیبره شود. می‌توان از دو کرونومتر استفاده کرد و میانگین زمان نشان داده توسط آن‌ها را محاسبه نمود.

نحوه کنترل زمان‌سنج سانتریفیوژ به صورت زیر می‌باشد:

۱- بین حداکثر و حداقل زمان‌های سانتریفیوژ، ۵ زمان را با فواصل مساوی انتخاب کنید.

۲- زمان‌های مورد نظر را یادداشت کنید.

۳- زمان‌سنج سانتریفیوژ را در هر یک از زمان‌های انتخاب شده با کرونومتر مقایسه کنید. هنگامی که مدت زمان‌سنج تمام شد، کرونومتر را خاموش کنید (نه هنگامی که حرکت دورانی سانتریفیوژ به پایان می‌رسد).

۴- تمام اعداد کرونومتر را در مقابل زمان‌های انتخاب شده مربوطه یادداشت نمایید.

۵- نتیجه را در فرم کالیبراسیون سانتریفیوژ وارد نمایید.

۶- اختلاف اعدادی که توسط کرونومتر خوانده شده با اعداد زمان‌سنج سانتریفیوژ مقایسه نمایید.

۷- اختلاف زمان بین سانتریفیوژ و کرونومتر کمتر از ۱۰٪ قابل قبول می‌باشد. در غیر این‌صورت دستگاه باید سرویس و مجددا این بررسی انجام شود.

کنترل دما

باید در نظر داشته باشیم که سانتریفیوژها در ضمن چرخش تولید حرارت می‌کنند و گاهی دمای درون آن‌ها در حین جدا نمودن سرم تا ۵ درجه سانتی گراد افزایش می‌یابد. تغییر در دما بستگی به دور و زمان چرخش و طرح روتور دارد. این عوامل می‌تواند باعث تبخیر نمونه و افزایش غلظت مواد موجود در آن و یا تخریب بعضی از مواد حساس به دما شوند.

برای کنترل دما بهتر است از یک دماسنج در داخل لوله آزمایشگاهی حاوی آب مقطر استفاده شده و قبل از روشن کردن سانتریفیوژ، دما خوانده و ثبت شود. پس از اتمام کار سانتریفیوژ، دما مجددا خوانده و ثبت می‌شود. اختلاف دما بیش از ۲°C در سانتریفیوژهای یخچال‌دار و بیش از ۵°C در انواع معمولی مهم بوده و می‌بایست با اصلاح دور و زمان دستگاه و سایر اقدامات آنرا رفع کرد.

کالیبراسیون

در صورتی که نتایج کنترل کیفی قابل قبول نباشد، دستگاه جهت کالیبراسیون به شرکت پشتیبان فرستاده شود.

ایمنی

- هیچ‌گاه نباید سانتریفیوژ را در حالی که درب آن باز است روشن نمود.
- نباید از سرعت بالاتر از حد لازم استفاده شود.
- هرگز قبل از ایست کامل سانتریفیوژ سعی در بازکردن درب آن نشود.
- قبل از اطمینان به کارکرد صحیح قفل درب سانتریفیوژ، از روشن کردن دستگاه اجتناب گردد.
- در صورت برقرار نبودن توازن و تولید صداهای ناهنجار بلافاصله دستگاه را خاموش نموده و رفع عیب گردد.
- همواره باید از تراز بودن Bucket ها قبل از روشن کردن دستگاه مطمئن شوید.
- لوله‌ها از نظر وجود خراش یا ترک، قبل از روشن شدن سانتریفیوژ، کنترل شوند.
- از سانتریفیوژ نمودن لوله‌های حاوی نمونه بدون درپوش تا حد امکان خودداری شود.
- در صورت شکستگی یا شک به شکستن لوله ها در سانتریفیوژ باید دستگاه را خاموش نموده، به مدت ۳۰ دقیقه صبر نمود و سپس اقدام به تمیز کردن و ضد عفونی شود که محلول سفید کننده ۱۰ ٪ برای این منظور مناسب است.
- اگر پس از خاموش کردن دستگاه مشخص شد که لوله شکسته است، باید درب سانتریفیوژ بلافاصله بسته شده و پس از ۳۰ دقیقه اقدامات بالا صورت پذیرد.

دستورالعمل فنی پردازنده‌های بافتی Tissue Processors (TP)

کلیات

این دستگاه نمونه‌های بافتی را برای انجام قالب‌گیری و تهیه برش‌های بسیار نازک با میکروتوم و رنگ‌آمیزی آماده می‌کند.

این دستگاه به دو روش متداول Conventional Overnight TP (CTP) و سریع Fully Automated Microwave Associated or Rapid TP (RTP) عمل می‌کنند.

چگونگی کاربری

الف – روش متداول (CTP): بیش از یکصدسال از قدمت این روش می‌گذرد. اصول این روش به شرح زیر است:

بافت‌های برش خورده را داخل سبد (Basket) فلزی یا کائوچو قرار داده و آن‌ها را داخل حامل‌های سبدی (Basket carrier) گذاشته و زمان تعویض ظروف را تنظیم کرده و سپس دستگاه را روشن می‌کنیم. این دستگاه دارای ۱۲ ظرف (container) است و تغییرات لازم در بافت‌ها را طی چهار مرحله ثبوت (Fixation)، آب‌گیری (Dehydration) یا الکل‌دهی، شفاف‌سازی (Cleaning) و آغشتگی (Impregnation) به پارافین به ترتیب زیر ایجاد می‌نماید:

برای ثبوت از دو ظرف فرمالین ۱۰٪ استفاده می‌گردد. مراحل آب‌گیری بوسیله شش ظرف اتانول به ترتیب ۷۰، ۹۰، ۹۰، ۹۶، ۱۰۰ و ۱۰۰ درجه انجام می‌شود. سپس بافت از دو ظرف گزیلول برای شفاف سازی عبور می‌کند و در نهایت در دو ظرف پارافین مایع با دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد (۵۶ ± ۲ ^{o}C) قرار می‌گیرد. در مدل‌های جدیدتر بر روی ظرف پارافین دوم یک پمپ خلا (vacuum unit) جهت نفوذ بهتر پارافین در نمونه‌های بافتی قرار گرفته است. زمان بندی توصیه شده برای قرار دادن بافت‌ها در ظرف حامل محلول‌ها به ترتیب زیر است:

- ظروف فرمالین هر کدام به‌مدت دو ساعت
- ظروف الکل هرکدام به‌مدت یک ساعت به جز ظروف الکل ۱۰۰ درجه هر کدام به‌مدت دو ساعت
- ظروف گزیلول هر کدام به‌مدت ۱/۵ ساعت
- ظرف پارافین اول به مدت دو ساعت و دوم به مدت سه ساعت

البته با توجه به کیفیت لام‌های تهیه شده این زمان‌بندی را می‌توان اندکی تغییر داد و کالیبر نمود.

ب – روش سریع (RTP): این دستگاه‌ها براساس امواج مایکرویو عمل نموده و نمونه‌ها یا برش‌های بافتی تازه یا ثابت شده در فرمالین را که ضخامت آنها حداکثر ۱/۵mm باشد، در مدت

۶۸ دقیقه پردازش می‌نمایند. از مزایای این روش این است که هر ۱۵ دقیقه می‌توان نمونه جدیدی را به دستگاه داد. کیفیت DNA و RNA استخراج شده بافتی به مراتب بهتر از روش CTP است.

نحوه نگه‌داری

*** پاک کردن (Cleaning) و مراقبت از دستگاه**

توجه کنید در هنگام تمیز کردن، دستگاه باید از منبع برق جدا شود.

برای تمیزکردن ظروف، سبد و حامل سبد از آب گرم و پاک‌کننده‌های معمولی استفاده کنید. در مورد ظروف پارافین، ابتدا پارافین گرم را داخل ظرف مناسبی ریخته و پارافین باقیمانده را پس از سرد شدن با اسپاچولای غیر فلزی بتراشید (استفاده از گزیلل توصیه نمی‌گردد).

زنگ را با آب و حلال مناسب پاک کنید. قطرات پارافین ریخته شده باید روزانه تمیز شوند و به علاوه سطح محلول‌ها و پارافین کنترل شود. قطعات مکانیکی دستگاه باید هر شش ماه یک‌بار کنترل شود.

کنترل قطعات الکتریکی باید توسط کارشناسان فنی مجرب و آشنا به سامانه صورت گیرد.

*** دمای حمام پارافین**

دمای حمام پارافین معمولا حدود ۵۶±۲°C است. دما باید به‌طور روزانه کنترل گردد و با استفاده از پیچ تنظیم در دمای مناسب قرار داده شود. باید توجه شود که دمای حمام پارافین با نقطه ذوب پارافین خریداری شده متناسب باشد.

کنترل کیفی

تعداد ۱۰۰-۵۰ نمونه پاتولوژی (با توجه به منابع مختلف) به‌صورت تصادفی جهت کنترل کیفی توسط یک پاتولوژیست انتخاب می‌گردد. پس از رنگ‌آمیزی H&E، کیفیت لام در دو گروه Satisfactory یا Suboptimal قرار گرفته و نتایج ارزیابی می‌شود.

دمای حمام پارافین را روی منحنی حرارت ثبت نموده و بر مبنای نتایج آن تصمیم‌گیری می‌گردد. درجه حمام پارافین باید به وسیله ترموستات قابل تنظیم باشد و روزانه دمای آن با یک دماسنج که داخل آن قرار می‌گیرد کنترل و ثبت گردد. تنظیم دما به نوع پارافین بستگی دارد ولی به‌طورکلی نباید از ۶۰°C بالاتر رود.

سطح محلول‌های داخل ظروف باید از قسمت فوقانی آن‌ها حدود ۲/۴ سانتی‌متر فاصله داشته باشد و محلول‌ها بسته به حجم و تعداد بافت‌ها و حجم کاری بطور منظم تعویض گردند.

هرگاه ثبوت بافت به درستی انجام نگیرد وسط قالب خراب شده و بافت داخل آن خشک و چروکیده می‌شود.

اگر آب‌گیری ناکامل باشد، قسمت وسط قالب شفاف نمی‌شود و منطقه وسط برش نرم بوده و به سادگی بریده نمی‌شود (از بین می‌رود).

چنانچه آب‌گیری کامل انجام نگیرد، باعث ایجاد اشکال در مراحل شفاف کردن و آغشتگی می‌گردد که نتیجه آن چروکیدگی و خشکی نمونه‌ها و هم‌چنین ایجاد فرورفتگی در سطح قالب است. برش‌های حاصل از این قالب‌ها روی حمام آب بافتی تکه تکه و جدا می‌گردند.

اگر آغشتگی با پارافین کامل نباشد وسط قالب نرم و بوی ماده شفاف کننده را می‌دهد.

قالب‌ها باید یکنواخت و شفاف باشند، چین‌دار یا خط خطی بودن آن‌ها به علت پارافین یا موم متبلور شده است. اگر بافت‌ها بسیار سخت باشند ممکن است به علت وجود نسوج ضخیم کلاژن، استخوان، پوست، چشم و تیروئید کلوئیدی و دکالسیفیکاسیون ناکامل و بدی ثبوت، حرکت سریع از آب به داخل الکل با درجه بالا، زیاد ماندن در گزیلول یا زیاد ماندن در حمام پارافین و یا بالا بودن درجه حرارت حمام پارافین باشد.

چنانچه نسوج خیلی چرب بوده و قابل برش نباشند، علت آن است که چربی بافت خوب گرفته نشده است، پس باید بافت بار دیگر داخل ماده شفاف کننده قرارگیرد و سپس پردازش از آن مرحله ادامه یابد.

بافت‌های مختلفی را که داخل یک قالب قرار می‌گیرند باید از نظر نوع و چگالی با یکدیگر هماهنگ باشند. اگر بافت‌ها بد پردازش شده باشند، باید قالب‌ها را دوباره درگزیلول قرار داد تا پارافین آن‌ها برداشته شود و سپس در الکل مطلق، ۹۵، ۸۰ درجه قرار گیرند و بعد با ملایمت دهیدراته و شفاف شوند و با پارافین آغشته شده و مجددا قالب‌گیری شوند.

کالیبراسیون

کالیبرکردن زمان قراردادن بافت‌ها در ظرف‌های حامل محلول‌ها معمولا با توجه به کیفیت لام‌های تهیه شده صورت می‌پذیرد که معمولا به‌صورت تجربی می‌توان این زمان‌ها را تا رسیدن به مقدار بهینه تغییر داد.

کالیبرکردن دستگاه با توجه به راهنمای دستگاه در زمان مقرر توسط شرکت مربوطه صورت می‌گیرد.

ایمنی

- با توجه به عوارض مواد شیمیایی مصرفی مانند فرمالین و گزیلول، کاربران باید حین انجام کار از دستکش و ماسک مناسب استفاده نمایند.
- برقراری تهویه مناسب در محل استقرار دستگاه ضروری است.
- به علت استفاده از محلول‌های با قابلیت اشتعال، از قراردادن شعله باز یا عوامل احتراق‌زا در نزدیکی دستگاه جلوگیری شود.
- در روش سریع (RTP) به علت عدم استفاده از محلول‌های بالا احتمال ایجاد عوارض برای کاربر کمتر است.

دستورالعمل فنی میکروتوم

کلیات

این دستگاه برای تهیه برش‌های بافتی بسیار نازک از بلوک‌های پارافینی کاربرد دارد.

چگونگی کاربری

به طورکلی دستگاه میکروتوم از دو قسمت تشکیل شده است. یک قسمت که بر روی آن بلوک تهیه شده را ثابت می‌نمایند و دیگری تیغ یا تیغه برش. قسمتی که بلوک بر روی آن ثابت می‌شود، مرتبط با یک دسته (چرخ) میکرومتری است که در هر گردش دسته میکروتوم، به اندازه چند میکرون به جلو یا عقب می‌رود. میکروتوم انواع مختلفی دارد ولی بهترین نوع آن به صورتی است که قالب بر روی چرخ میکروتوم ثابت است و در نتیجه مرتبا در مقابل تیغه در یک جهت حرکت می‌کند و بدین ترتیب برش‌ها تشکیل نوارهای باریکی را می‌دهند.

برای تهیه برش از بلوک‌های پارافینی ابتدا باید بلوک‌ها را تهیه نمود و سپس میکروتوم را به‌صورت صحیح تنظیم کرد.

میکروتوم چرخشی رایج‌ترین وسیله مورد استفاده در تهیه برش‌ها است. قبل از تهیه برش‌ها، باید بلوک‌های پارافینی را مرتب کرد. سپس بلوک‌ها با استفاده از چاقوی استیل یا تیغ یک‌بار مصرف از قالب جدا می‌گردند، به‌طوری‌که پارافین به ضخامت سه میلی‌متر در اطراف بافت وجود داشته باشد. سطوح قالب‌ها باید صاف و با یکدیگر موازی باشند و علاوه بر آن بافت به‌صورت کامل داخل بلوک قرار گرفته باشد. در هنگام برش باید تیغه کاملا تیز باشد تا از ترک خوردگی یا شکستن قالب‌ها جلوگیری شود. قالب باید روی پایه میکروتوم به طریقی ثابت شود که محور بلند طولی آن به موازات تیغه قرار گیرد. باید تیغه را در محل مورد نظر به طور ثابت و محکم قرار دهیم و درجه انحراف آن به دقت تعیین شده و مناسب باشد. تمام پیچ و مهره‌های مربوط به تیغه باید محکم باشند. سپس باید آن قدر از سطح بلوک بریده شود تا تمام سطح بافت در برابر تیغه برش قرار گیرد و سپس برش نهایی داده شود.

معمولا برای بافت‌های معمولی ضخامت برش دستگاه بین سه الی پنج میکرون تنظیم می‌شود. بافت‌های بریده شده را در هنگام برش با دست چپ نگاه می‌داریم ولی از پنس هم می‌توان استفاده کرد. برش‌ها باید نواری، صاف و بدون چین و چروک باشند. قطعات بریده شده پس از آن که در حمام آب پهن و صاف شدند روی ورقه یا روی لام قرار داده می‌شوند. تهیه برش خوب به تجربه شخصی و آشنایی کامل فرد تکنسین به وسایل مورد استفاده بستگی دارد. بنابراین تکنسین‌ها برای این‌کار باید به خوبی آموزش داده شوند، از آنجایی که نتایج کار به‌صورت عمده‌ای به حساسیت و عملکرد تیغه بستگی دارد، هر تکنسین باید نحوه استفاده از تیغه و نگه‌داری آن را به خوبی بداند. از

مهم‌ترین نکات در هنگام برش حفظ زاویه مناسب برش یا cutting clearance angle است. معمولا این زاویه بین پنج الی ده درجه است.

هنگامی‌که برش‌ها رضایت بخش نباشند و نمونه‌ها به خوبی پردازش نشده باشند، قالب نمونه‌ها و تیغه را می‌توان با یخ، سرد کرد. در مورد نمونه‌های مشکل مثل ناخن و تاندون‌ها و یا نمونه‌های سفت می‌توان از یک عامل نرم کننده استفاده نمود. هم اکنون اسپری‌هایی برای استفاده این منظور وجود دارد که این مواد را روی سطح قالب می‌افشانند.

نحوه نگه‌داری

* بدنه، پایه و تیغه میکروتوم باید هر روز بعد از هر دوره کاری تمیز گردد (می‌توان از یک گاز آغشته به گزیلن برای زدودن پارافین استفاده کرد).
* هنگامی‌که از دستگاه استفاده نمی‌شود، باید تیغه را برداشته و ضامن دستگاه را قفل نمود.
* روغن‌کاری مربوط به دستگاه توسط تکنسین مربوطه و در فواصل مشخصی انجام گردد.
* تیغه‌ها باید همیشه در جعبه مخصوص خود حمل و نگه‌داری شوند تا به لبه‌های آن صدمه وارد نشود.
* تیغه‌ها در صورتی که یک‌بار مصرف نیستند باید به‌صورت دوره‌ای و در هنگام لزوم تیز شوند.

کنترل کیفی

نسوج باید به‌صورت نواری شکل از قالب‌ها بیرون آیند و کاملا مسطح و بدون چروک و خطوط پارگی باشند (مانند خارج شدن کاغذها از یک چاپگر). در مطالعه میکروسکوپی برش‌ها نباید دچار خراش‌های طولی و یا عدم یکنواختی‌ها به‌صورت عرضی باشند و علاوه بر آن ضخامت نسوج تعیین شده باید برای روش مطالعه و درجه تنظیم میکروتوم تناسب داشته باشد.

به عنوان یک قانون کلی تیغه‌های میکروتوم باید همیشه کاملا تیز و تمیز باشند.

در جدول ۸-۱ برخی از اشکالات در هنگام کار با میکروتوم و تهیه برش‌ها و نحوه رفع آن توضیح داده شده است.

جدول ۸-۱: اشکالات کار میکروتوم و نحوه رفع آن‌ها

نوع اشکال	علل ایجاد خرابی	رفع اشکال
نوار برش‌ها حالت خمیده دارند.	لبه‌ها و یا کناره‌های قالب موازی نباشند. تیغه در یک ناحیه کند باشد. پارافین در یک طرف بلوک اضافی است و مازاد دارد. قوام نسوج متغیر باشد.	۱) تراشیدن قالب با تیغ جراحی (اسکالپل) تا هنگامی‌که لبه‌ها موازی گردد. ۲) از قسمت‌های دیگر تیغه استفاده کنید. ۳) پارافین اضافه را بتراشید. ۴) قالب‌ها را ۹۰ درجه بچرخانید. ۵) برش‌های منفرد را جداگانه mount کنید. ۶) قالب‌ها را با یخ سرد کنید.

ادامه جدول ۸-۱: اشکالات کار میکروتوم و نحوه رفع آن‌ها

نوع اشکال	علل ایجاد خرابی	رفع اشکال
برش‌ها به‌صورت متناوب (alternate) ضخیم و نازک باشند.	۱) پارافین به نسبت بافتی که برش داده می‌شود یا ضخامت مورد نظر در برش نرم‌تر است. ۲) تیغه یا قالب شل باشند. ۳) زاویه کلیرانس ناکافی باشد. ۴) مکانیزم میکروتوم دچار مشکل باشد.	۱) قالب را با یخ، سرد کنید و یا در داخل پارافین با نقطه ذوب بالاتر دوباره قالب‌گیری کنید. ۲) تیغه را سفت کنید. ۳) کمی زاویه را افزایش دهید. ۴) میکروتوم را کنترل و تنظیم کنید.
برش‌ها پیوستگی مناسب را برای ایجاد نوار ندارند.	۱) پارافین بسیار سخت باشد. ۲) بر روی لبه تیغه دبری وجود داشته باشد. ۳) لبه چاقو بسیار کم عمق یا تند باشد.	۱) بر روی قالب‌ها بدمید تا گرم شود و یا در داخل پارافین با نقطه ذوب پایین‌تر دوباره قالب‌گیری کنید. ۲) با پارچه آغشته به گزیلن تمیز کنید. ۳) آن را تنظیم کنید.
قسمت‌هایی از بافت بلوک شده در برش وجود ندارد.	۱) اشباع سازی ناکافی نسوج ۲) قالب‌های پارافینی از کاست جدا شوند.	۱) نسوج را به مدت چند ساعت به حمام پارافین بازگردانید یا آنکه اگر اشکال زیاد است دوباره پردازش را انجام دهید. ۲) با استفاده از اسپاچولای داغ آن را دوباره بچسبانید.
برش‌ها در هنگام (ضربه) برگشت به قالب‌ها چسبانیده شوند.	۱) زوایه کلیرانس ناکافی بین قالب و تیغه. ۲) دبری‌های پارافینی در لبه تیغه موجود است. ۳) دبری‌ها روی لبه قالب موجود است. ۴) وجود بار الکتریکی ساکن روی نوارهای برش‌های نسجی پارافین.	۱) زاویه را افزایش دهید. ۲) با پارچه آغشته به گزیلن تمیز گردد. ۳) با تیغ جراحی تمیز آن را بردارید. ۴) یک پارچه مرطوب را نزدیک تیغه قرار دهید.
نوارهایی از نسوج متناوب ضخیم و ظریف در یک برش موازی با لبه تیغه.	۱) تیغه کند است. ۲) میکروتوم ارتعاش دارد. ۳) تیغه شل باشد. ۴) زاویه تیغه بسیار زیاد باشد. ۵) نسوج یا پارافین برای برش بسیار سخت باشد. ۶) نواحی کلسیفیکاسیون در نسج وجود داشته باشد.	۱) تیغه را جایگزین یا دوباره تیز کنید. ۲) سرویس شود. ۳) تیغه سفت گردد. ۴) زاویه را کاهش دهید ولی کلیرانس حفظ شود. ۵) از تیغه مخصوص کار سنگین یا از مایعات نرم کننده روی نسوج استفاده کنید. ۶) بافت را دکلسیفیه یا آب‌گیری مجدد نمایید.

ادامه جدول ۸-۱: اشکالات کار میکروتوم و نحوه رفع آن‌ها

نوع اشکال	علل ایجاد خرابی	رفع اشکال
خط دار شدن یا شکاف‌دار شدن برشها در زاویه راست نسبت به لبه تیغه.	۱) نقصان در لبه چاقو وجود دارد. ۲) نواحی سفت و زبر در نسوج وجود دارد. ۳) پارتیکل‌های سفت در پارافین وجود دارد.	۱) از قسمت دیگر تیغه استفاده گردد. ۲) اگر دارای کلسیم است آن را دکلسیفیه کنید یا در بقیه موارد با استفاده از تیغ جراحی دارای لبه تیز آن را بردارید. ۳) با پارافین فیلتر شده تازه دوباره قالب‌گیری کنید.
برش‌ها فشرده می‌شوند.	۱) تیغه کند است. ۲) لبه تیغه بسیار پهن باشد. ۳) پارافین برای نسوج یا شرایط برش بسیار نرم باشد.	۱) آن را دوباره تیز یا عوض کنید. ۲) دوباره تیغه را بسایید (خردکردن - صاف کردن) ۳) قالب‌ها را با یخ سرد کنید یا از پارافین با نقطه ذوب بالاتر استفاده کنید.
برش‌ها از هم باز شوند یا در سطح حمام آب گرم از هم جدا شوند.	۱) آغشتگی ناکامل نسجی وجود دارد. ۲) درجه حرارت آب بسیار بالا باشد.	۱) نسوج را به‌مدت دو ساعت به ظرف پارافین آغشته کننده برگردانید. ۲) حمام آب را سرد کنید.
پیچیده شدن (برش‌ها پیچ‌دار شده و به‌صورت صاف روی تیغه نمی‌ماند).	۱) تیغه کند است. ۲) زاویه Rake (زاویه بین لبه برش با بافت) بسیار کم باشد. ۳) ضخامت برش‌ها برای پارافین بسیار زیاد باشد.	۱) آن را تیز کنید یا عوض کنید. ۲) کاهش میزان کج بودن تیغه اگر زاویه کلیرانس بسیار زیاد است. ۳) کاهش ضخامت برش یا استفاده از پارافین دارای نقطه ذوب بالاتر. دمیدن روی قالب‌ها همانطور که نسوج بریده می‌شوند.

ایمنی

- اطمینان از قفل بودن ضامن مربوط به دستگاه در هنگامی که از دستگاه میکروتوم استفاده نمی‌شود.
- قراردادن محافظ بر روی تیغه در هنگامی که عملیات برش صورت نمی‌گیرد.
- حمل و نقل تیغه‌ها در جعبه‌های مخصوص آن‌ها صورت گیرد.
- هرگز نباید به تیغه میکروتوم بدون محافظ مناسب (دستکش مخصوص) دست زد.

دستورالعمل تهیه آب خالص و کنترل کیفی آن و تجهیزات مربوطه

کلیات

کیفیت نامرغوب آب اثر نامطلوبی بر نتایج آزمایش‌ها داشته و از این رو تضمین کیفیت آب مصرفی در آزمایشگاه لازم و ضروری است.

آب خالص به سه روش تهیه می‌شود:

۱. تقطیر: در روش تقطیر، آب را می‌جوشانند و بخار آن را سرد می‌کنند. در این روش، آهن، منیزیم و کلسیم و هم‌چنین ارگانیسم‌ها برداشته می‌شوند اما ناخالصی‌های فرار مانند دی‌اکسید کربن، کلر و آمونیاک جدا نمی‌شوند. آب بدست آمده از این روش درجه II یا III است.

۲. دیونیزه‌کردن: در این روش آب از بین ستون‌های رزینی که حاوی ذرات باردار منفی و مثبت است عبور داده می‌شود. این ذرات با یون‌های موجود در آب ترکیب شده و آب نهایی دیونیزه خواهد بود. مواد آلی و سایر موادی که قادر به یونیزه شدن نیستند برداشته نمی‌شوند. برای تهیه آب درجه I باید از فیلتر غشایی و شارکول فعال استفاده کنیم.

۳. روش اسمز معکوس: آب تحت فشار از غشای نیمه تراوا (معمولا استات سلولز) عبور داده می‌شود. این غشا حدود ۹۰٪ مواد جامد محلول، ۹۸٪ ناخالص‌های آلی و مواد غیر قابل حل و ارگانیسم‌های میکروبی را جدا می‌سازد. قادر به جداسازی گازهای محلول نیست و فقط ۱۰٪ ذرات یونیزه را جدا می‌کند. معیارهای CLSI برای درجه‌بنـدی آب خالص در جدول ۹-۱ نشان داده شده است.

جدول ۹-۱: معیارهای CLSI برای درجه‌بندی آب خالص

ویژگی	درجه I	درجه II	درجه III
pH	درنظر گرفته‌نمی‌شود.	درنظرگرفته‌نمی‌شود.	۵-۸
آلودگی میکروبی بر اساس CFU/ml	۱۰	$۱۰^{۳}$	درنظرگرفته‌نمی‌شود.
مقاومت الکتریکی برحسب میلی‌اهم بر سانتی‌متر (Mohm/cm)	۱۰	۲	۰/۱
هدایت الکتریکی برحسب میکروزیمنس بر سانتی‌متر (Microsiemens/cm)	۰/۱	۰/۵	۱۰
مواد آلی	آب از کربن فعال عبور داده شود.	درنظر گرفته نمی‌شود.	درنظرگرفته نمی‌شود.
تعداد ذرات ریز معلق که از فیلتر با سوراخ ۰/۲۲ میکرون عبور داده می‌شود.	< ۵۰۰/Lit	درنظر گرفته نمی‌شود.	درنظرگرفته نمی‌شود.

موارد مصرف انواع آب به شرح زیر است:

- موارد مصرف آب درجه I:

تهیه محلول‌های استاندارد، بافر، حل‌کردن سرم‌های کنترل و لیوفیلیزه، الکتروفورز، غربالگری سم‌شناسی و High Pressure Liquid Chromatography (HPLC)، عناصر کمیاب، کشت سلول

- موارد مصرف آب درجه II:

آزمایش‌های بیوشیمی، هماتولوژی، ایمنولوژی، میکروبیولوژی، سرولوژی

- موارد مصرف آب درجه III:

تجزیه ادرار و مدفوع، شست‌وشو و آب‌کشی وسایل شیشه‌ای، ساخت محیط کشت و بافت‌شناسی

روش نگه‌داری انواع آب

- نگه‌داری آب درجه یک: آب درجه یک را حداکثر دو تا سه ساعت پس از تهیه باید مصرف کنیم.
- نگه‌داری آب درجه دو و سه:

آب‌های درجه دو و سه را می‌توان در شیشه‌هایی از جنس بروسیلیکات یا ظروف پلی اتیلن نگه‌داری کرد اما سریع باید مصرف شود تا از آلودگی میکروبی با میکروب‌های موجود در هوا جلوگیری شود. درب ظروف را باید محکم بست تا از جذب گازها جلوگیری شود. آب مقطر حداکثر یک هفته در ظروف پلاستیکی یا شیشه‌ای نگه‌داری می‌شود. آب دیونیزه برای تعیین مقدار الکترولیت‌ها مناسب‌تر است.

چگونگی کاربری

برحسب روش تخلیص و نوع دستگاه متفاوت بوده و در کتابچه راهنمای دستگاه نیز موجود است.

کنترل کیفی

- کنترل کیفی آب آزمایشگاه

تعیین هدایت با مقاومت الکتریکی: میزان هدایت یا مقاومت الکتریکی آب با استفاده از دستگاه کانداکتیویتی‌متر یا مقاومت‌سنج، اندازه‌گیری می‌شود. بعضی دستگاه‌های تخلیص آب، این وسایل را در مسیر خروجی خود دارند اما در بیش‌تر موارد میزان هدایت یا مقاومت الکتریکی آب باید در فواصل هفتگی (یا برحسب نیاز در هر بار مصرف) اندازه‌گیری شود. استفاده از این روش حساسیت بالایی داشته و توصیه می‌گردد این روش در آزمایشگاه‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

- کنترل کیفی مواد آلی آب

با اضافه‌کردن چند قطره محلول پرمنگنات پتاسیم به آب خالص در صورتی‌که پس از یک ساعت رنگ بنفش مایل به ارغوانی آن باقی بماند، نشان‌دهنده خلوص بالای آب و در غیر این‌صورت نشان‌دهنده مواد آلی زیاد است.

- اندازه‌گیری pH آب

pH آب درجه I و II به علت عدم وجود یون غیرقابل اندازه‌گیری است.

➢ روش‌های شیمیایی

روش‌های شیمیایی متعددی برای نشان دادن وجود املاح خاص در آب وجود دارد و می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند.

برای مطالعه بیش‌تر می‌توان به منابع معتبر مراجعه نمود.

- نگه‌داری رزین

➢ رزین‌های کاتیونی را در محلول اسیدکلریدریک و رزین‌های آنیونی را در محلول سود احیا می‌کنند.

➢ رزین تجهیزات دیونیزه‌کننده پس از مدت زمان مشخص (مطابق بروشور دستگاه) و یا با بالا رفتن میزان هدایت الکتریکی آب باید احیا شوند.

لازم به ذکر است که ظرفیت رزین علاوه بر جنس آن به مقدار املاح موجود در آب شهر بستگی دارد. کنترل هفتگی رزین با اندازه‌گیری هدایت الکتریکی آب تولیدی ضروری است.

دستورالعمل فنی هدایت سنج (کانداکتیویتی‌متر)

کلیات

با توجه به اینکه محلول‌های آبی بر حسب میزان ماده محلول در آن‌ها و درجه حرارت و سایر عوامل، قادر به انتقال جریان الکتریسیته می‌باشند، بر این اساس دستگاه رسانایی سنج، در واقع میزان هدایت یا رسانایی الکتریکی آب (یا محلول آبی) را اندازه می‌گیرد.

هر چه یون‌های نمکی در محلول بیشتر باشد، کانداکتیویتی بیشتری دارد.

Electrical Conductivity (EC) بیانگر میزان کل نمک‌های غیرمحلول در آب یا Total Dissolved Salts (TDS) است که واحد آن mg/L می‌باشد.

ساختمان دستگاه و روش‌های اندازه‌گیری میزان رسانایی الکتریکی

- **ساختمان دستگاه**

این دستگاه رسانایی محلول‌های آبی را به دو روش تماسی یا الکترودی و روش القایی اندازه‌گیری می‌کند. در ساختمان رسانایی سنج‌های الکتریکی دو یا چهار الکترود به کار رفته است.

•• رسانایی سنج‌های الکترودی

در رسانایی سنج‌های دو الکترودی، این دو الکترود مقابل هم قرار می‌گیرند و بر روی قطب آند جریان ثابتی اعمال می‌گردد و با توجه به میزان رسانایی محلول، این جریان به الکترود کاتد رسیده و میزان آن اندازه گیری می‌گردد.

در روش چهار الکترود، دو الکترود دیگر به عنوان رفرانس برای سنجش جریان ایجاد شده بر روی سلول استاندارد استفاده می‌شود.

•• رسانایی سنج‌های القایی

در ساختمان رسانایی سنج‌های القایی دو حلقه با پوشش پلیمری به کار می‌رود که در یکی از حلقه‌ها میدان مغناطیسی القا شده و در حلقه دوم شدت این میدان با توجه به میزان الکترولیت محلول در آب اندازه‌گیری می‌شود. این نوع رسانایی سنج بیشتر در رسانایی در دمای بالا کاربرد دارد.

واحد سنجش رسانایی میکروزیمنس بر cm می‌باشد که با مقاومت الکتریکی که بر حسب اهم است رابطه معکوس دارد.

چگونگی کاربری

ابتدا دستگاه را روشن نموده و صبر کنید تا درجه آن صفر شود. سپس تا میزان خط نشانه پایین دستگاه، آنرا داخل آب مورد نظر فرو برده و چند لحظه صبر نموده تا درجه رسانایی الکتریکی آب روی صفحه نمایش نشان داده شود.

نحوه نگه‌داری

* الکترودها قبل و بعد از استفاده با پارچه تمیز گردند و بعد از هر بار استفاده آب با رسانایی بالا حتما در آب دیونیزه با رسانایی مطلوب شست‌وشو داده شوند.
* این دستگاه سالی یک‌بار نیاز به سرویس، توسط شرکت پشتیبان دارد.

کنترل کیفی

- **کنترل دقت**

رسانایی یک نمونه محلول (بارسانایی نزدیک به مقدار مورد نظر) را حداقل ده بار اندازه گرفته وCV آن اندازه‌گیری شود. این کار در هرماه حداقل یک بار انجام گیرد.

- **کنترل صحت**

با استفاده از محلول‌های آماده و در صورت عدم دسترسی روزانه میزان رسانایی محلول یا آب تولیدی را در منحنی QC ثبت و بر اساس نتایج تصمیم‌گیری می‌گردد.

کالیبراسیون

در ابتدای شروع کار با دستگاه و سپس هر ۶ ماه یک‌بار و هم‌چنین در صورتی که CV در آزمون کنترل دقت بالا باشد، صورت می‌گیرد.

معمولا کالیبراسیون با استفاده از محلول‌های آماده (با رسانایی نزدیک ۰/۵ میکرو زیمنس)، انجام می‌گیرد. برای رسانایی بالاتر از ۰/۵ میکرو زیمنس، بهتر است از محلول‌های استاندارد توصیه شده توسط شرکت سازنده استفاده کنید.

محلول‌های استاندارد حاوی آب، نمک‌های آماده و الکل هستند.

طول مدت نگه‌داری محلول‌های آماده کالیبراسیون که بسته‌بندی کارخانه‌ای دارند ۱ سال است. محلول‌های قدیم را با جدید مخلوط نکنید. وقتی از محلولی استفاده شد باید دور ریخته شود و به داخل ظرف اصلی بازگردانده نشود. حرارت محلول بر میزان هدایت جریان الکتریسته مؤثر است، به ازای هر یک درجه سانتی‌گراد افزایش در حرارت محلول، میزان هدایت در حدود ۲٪ افزایش می‌یابد. این میزان تغییر با نوع یون‌های موجود در محلول و غلظت آن‌ها بستگی دارد. وقتی دستگاه را کالیبره می‌کنیم، حرارت محلول کالیبراسیون باید تا حد ممکن به محلول مورد آزمایش نزدیک باشد تا تأثیر درجه حرارت به حداقل برسد.

ایمنی

محلول نباید با سیستم ذخیره الکتریکی تماس پیدا کند لذا پس از هر بار استفاده، بایستی الکترودها خشک شوند.

دستورالعمل شمارش‌گر خودکار سلول‌های خونی

اساس کار دستگاه‌های شمارش‌گر خودکار سلولی

اساس کار اکثریت دستگاه‌های شمارنده سلولی خودکار بر دو مکانیسم مقاومت الکتریکی و پراکندگی نور به شرح زیر استوار است:

- **مقاومت الکتریکی**: این روش اولین بار توسط والاس کولتر در سال ۱۹۵۶ مطرح شد و اساس کار دستگاه‌هایی نظیر کولتر، بکمن، سیسمکس، ابوت و... قرارگرفت. در این مکانیسم، خون در یک محلول بافری الکتریکی رقیق شده و از بین دو الکترود حامل جریان الکتریکی مستقیم عبور می‌کند. با عبور هر سلول خونی از این مسیر، مقاومت الکتریکی و یک پالس الکتریکی ایجاد می‌شود. تغییر در پتانسیل بین الکترودها متناسب با مدت زمانی است که گلبول از فضای بین دو الکترود، که اصطلاحا دریچه نامیده می‌شود، عبور می‌کند. ارتفاع هر پالس نشان دهنده حجم سلول و تعداد پالس نشان دهنده تعداد سلول است.

- **پراکندگی نور**: در این روش، سوسپانسیون رقیق شده سلول‌ها به‌صورت یک ردیف سلولی از مقابل منبع نوری عبور می‌کند و باعث پراکندگی نور می‌شود. نور پراکنده شده از طریق یک فزاینده نوری یا فوتودیود به پالس‌های الکتریکی تبدیل می‌شود که در این حالت، تعداد پالس‌ها نمایانگر تعداد سلول‌ها و ارتفاع پالس‌های الکتریکی، که متناسب با میزان پراکندگی نور بوده، نشان‌دهنده حجم سلول‌ها است. منبع نوری بر حسب نوع دستگاه، لیزر یا تنگستن است. هرچه قطر ردیف سلول‌های عبوری کوچک‌تر باشد (به اندازه قطر گلبول‌های قرمز)، نور با دقت بیش‌تری بر جریان سلول‌ها تابیده و نتایج دقیق‌تری حاصل می‌شود.

در دستگاه‌های خودکار شمارنده سلولی حداقل دو مجرا طراحی شده است:

- در مجرای اول، با افزودن رقیق‌کننده به نمونه خون، اندازه و تعداد گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها تعیین می‌شود، که به منظور جداسازی پلاکت‌ها از گلبول‌های قرمز و شمارش آن‌ها در دستگاه دو آستانه جداکننده بالا و پایین تعریف شده است.
- در مجرای دوم، با افزودن ماده لیزکننده به نمونه و با کمک رقیق‌کننده، گلبول‌های قرمز لیز شده و گلبول‌های سفید که دست نخورده مانده‌اند، شمارش می‌شوند. در این مجرا، علاوه بر شمـارش گلبول‌هـای سفید، مقدار هموگلوبین نیز به روش سیان متهموگلوبین اندازه‌گیری می‌شود. در دستگاه‌های جدیدتر برای شمارش افتراقی لکوسیت‌ها مجراهای دیگری در نظر گرفته شده است.

اندازه‌گیری هماتوکریت (HCT) و حجم متوسط گلبول قرمز یا Mean Corposcular Volume (MCV) در دستگاه‌های خودکار شمارنده سلول کاملا به یکدیگر وابسته‌اند. در برخی دستگاه‌ها، با محاسبه میانگین ارتفاع پالس‌های حاصل از عبور گلبول‌های قرمز از دریچه، مقدار MCV مشخص می‌شود و براساس تعداد گلبول‌های قرمز شمارش شده، میزان هماتوکریت توسط دستگاه محاسبه می‌شود. در دستگاه‌های دیگر، از مجموع پالس‌های حاصل از عبور گلبول‌های قرمز، میزان HCT تعیین شده و با استفاده از تعداد گلبول‌های قرمز، مقدار MCV محاسبه می‌شود. تقریبا در تمام دستگاه‌ها سایر شاخصه‌های گلبول‌های قرمز مانند Mean Corposcular Hemoglobin (MCH) و Mean Corposcular Hemoglobin Concentration (MCHC) از طریق محاسبه و با استفاده از مقادیر هموگلوبین، HCT و تعداد گلبول‌های قرمز مشخص می‌شوند. میزان پراکندگی اندازه گلبول‌های قرمز Red Cell Distribution Width (RDW) در دستگاه‌ها، با استفاده از محاسبه میزان تغییرات ارتفاع پالس‌های ایجاد شده به‌دنبال عبور گلبول‌های قرمز تعیین و به‌صورت انحراف معیار با واحد فمتولیتر یا ضریب انحراف معیار یا واحد درصد ارایه می‌شود.

چگونگی کاربری

نحوه کاربری دستگاه باید بر اساس نوع دستگاه و کتابچه راهنمای آن، توسط آزمایشگاه مکتوب گردد.

نحوه نگه‌داری

برای نگه‌داری دستگاه به‌صورت روزانه، هفتگی، ماهانه و سالانه باید بر اساس کتابچه راهنمای دستگاه عمل شود.

کالیبراسیون

به‌طور کلی دستگاه‌های سل کانتر هر شش ماه یک‌بار می‌بایست کالیبر شوند ولی انجام این امر در مواردی مانند ابتدای راه‌اندازی، پس از هر بار تعمیر یا سرویس، قابل قبول نبودن نتایج کنترل کیفی روزانه، و یا تعویض محلول‌ها (در صورتی که موجب تغییر مشخص در نتایج خون کنترل و یا نمونه بیماران شده باشد) نیز ضروری می‌باشد.

جهت کالیبراسیون سل‌کانترها کالیبراتورهای تجاری وجود دارد که مقادیر هدف یا مورد نظر در آن‌ها با روش‌های مرجع کالیبر شده‌اند. این سوسپانسیون سلول‌های خونی در صورت داشتن تاریخ انقضای معتبر و تاییدیه‌های لازم و به‌شرط رعایت دستورالعمل‌های کارخانه سازنده برای کالیبراسیون دستگاه مناسب می‌باشند. موقعیت روند کالیبراسیون را می‌توان به‌وسیله آزمایش نمونه کنترل، مقایسه نتایج دستگاه با انجام روش‌های مرجع بر روی چند نمونه خون و کنترل دقیق میانگین‌های متحرک در مورد شاخص‌های گلبول‌های قرمز تایید نمود.

در صورت عدم دسترسی به کالیبراتورهای تجارتی یا وجود هرگونه شک نسبت به اعتبار آن استفاده از خون کامل جهت کالیبراسیون ضروری می‌باشد، برای کالیبراسیون باید از خون طبیعی تازه، استفاده کرد. برای این‌کار پارامترهای حداقل ۳ نمونه خون کامل طبیعی دوبار با روش‌های مرجع دستی و دوبار نیز با سل‌کانتر (در بعضی مراجع ۵ بار هم ذکر شده است) اندازه‌گیری شده و پس از محاسبه میانگین هر پارامتر با روش دستی و دستگاهی، با استفاده از فرمول زیر فاکتور کالیبراسیون تعیین می‌گردد.

$$\text{Calibration Factor} = \frac{\text{میانگین روش دستگاهی} - \text{میانگین روش دستی}}{\text{میانگین روش دستگاهی}} \times ۱۰۰$$

لازم به ذکر است روش‌های مرجع برای اندازه‌گیری هموگلوبین، هماتوکریت و شمارش گلبول‌های سفید به ترتیب سیان مت‌هموگلوبین، میکروهماتوکریت و استفاده از لام نئوبار می‌باشند. اخیرا در کتب مرجع کولترهای تک کاناله، به عنوان روش مرجع برای شمارش گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها عنوان شده‌اند که به‌علت عدم دسترسی به این تجهیزات در کشور ما کماکان از لام نئوبار برای شمارش سلول‌های خونی استفاده می‌شود ولی به‌علت خطای زیاد در شمارش گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها با این روش، بهتر است شرکت پشتیبان اقدام به کالیبراسیون این دو پارامتر نماید.

مثال ۲-۱: اگر میانگین اندازه‌گیری هموگلوبین به‌روش دستی ۱۴۵ گرم در لیتر و با سل کانتر ۱۴۰ گرم در لیتر باشد، فاکتور تصحیح کالیبراسیون دستگاه با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌گردد:

Calibration Factor = (۱۴۵-۱۴۰) / ۱۴۰×۱۰۰ = ۰/۳۵۷=۳/۵۷٪

در نتیجه ضریب کالیبراسیون هموگلوبین دستگاه می‌بایست ۳/۵۷٪ افزایش یابد. به‌عنوان مثال اگر ضریب کالیبراسیون هموگلوبین دستگاه قبلا ۱۰۰ بوده، باید مقدار آن ۳/۵۷٪ افزایش یافته و روی ۱۰۳/۵۷٪ تنظیم گردد.

لازم به ذکر است هنگام استفاده از روش میکروهماتوکریت برای کالیبراسیون سل کانتر، می‌بایست میزان هماتوکریت به‌دست آمده را اصلاح نمود که این کار با کاستن میانگین میزان پلاسمای به دام افتاده (trapped plasma) که در هماتوکریت افراد طبیعی یافت می‌شود، صورت می‌گیرد. این میزان که حدود ۱/۵ تا ۳٪ برآورد شده است باید از میانگین هماتوکریت به‌دست آمده کسر شده و سپس کالیبراسیون انجام شود.

در بعضی از انواع سل‌کانترها مثل گروه سیسمکس، ضریب کالیبراسیون جدید با استفاده از فرمول کالیبراسیون مندرج در کاتالوگ، مستقیما به‌ترتیب زیر محاسبه می‌شود:

$$\text{New Calibration Factor} = \frac{\text{میانگین روش دستی}}{\text{میانگین روش دستگاهی}} \times \text{فاکتور کالیبراسیون قبلی}$$

- **پایداری کالیبراسیون با استفاده از آزمون آماری (T-Brittin)**

جهت اطمینان از پایداری کالیبراسیون و کامل شدن روند کنترل کیفی دستگاه، علاوه بر استفاده از خون کنترل می‌توان از نمونه‌های خون تازه طبیعی نیز استفاده نمود. بدین ترتیب که با توجه به پایداری پارامترهایی نظیر WBC، RBC، Hb و بعضی از اندکس‌های خونی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴°C، در روز اول حداقل ۵ و ترجیحا ۱۰ نمونه کاری که دارای مقادیر طبیعی می‌باشند را پس از آنالیز در یخچال نگه‌داری نموده و در روز بعد مجددا مورد آزمایش قرار داد و وجود اختلاف معنی‌دار بین مقادیر نمونه‌های جفت را با استفاده از آزمون آماری T-Brittin محاسبه نمود.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2 - \frac{(\sum d)^2}{n}}{n-1}} \qquad t_n = \frac{\bar{d}\sqrt{n}}{SD}$$

d: اختلاف بین دوخوانده (روز به روز)

n: تعداد جفت‌های مورد بررسی

SD: انحراف معیار اختلاف

مقدار t برای پارامترهای فوق محاسبه گشته که اگر مقدار آن برای ۵ نمونه از ۲/۷۸ و برای ۱۰ نمونه از ۲/۲۶ بیش‌تر باشد، با اطمینان ۹۵٪ می‌توان گفت که بین مقادیر شمارش شده در دو روز، اختلاف معنی‌دار وجود دارد. وجود اختلاف معنی‌دار برای یک متغیر بیانگر اشکال احتمالی بوده که در صورت تداوم آن جهت رفع اشکال می‌بایست اقدامی صورت گیرد.

نکته: لازم به ذکر است استفاده از این روش به‌عنوان تنها روش کنترل کیفی دستگاه، مجاز نمی‌باشد زیرا توجه به نتایج آن به تنهایی و بدون در نظر داشتن نتایج خون کنترل، گاها موجب گمراهی کاربر و تغییر بی مورد ضرایب کالیبراسیون دستگاه می‌شود. در حال حاضر با توجه به روش‌های مختلف کنترل کیفی، اساسا استفاده از این روش از طرف بعضی از کارشناسان مورد تردید جدی قرار گرفته است.

مثال ۳-۱: در صورتی که نتایج حاصل از اندازه‌گیری هموگلوبین ۵ نمونه خون با استفاده از یک دستگاه سل‌کانتر در دو روز متوالی مطابق جدول ۱۰-۱ باشد، عملکرد دستگاه با کمک فرمول T-Brittin به‌صورت زیر بررسی می‌گردد:

جدول ۱۰-۱: نتایج هموگلوبین(gr/L) در دو روز متوالی

مقدار هموگلوبین روزاول	مقدارهموگلوبین روز دوم	d	d^2
۱۲۲	۱۱۹	-۳	۹
۱۳۶	۱۴۰	۴	۱۶
۱۷۸	۱۸۳	۵	۲۵
۱۴۵	۱۴۰	-۵	۲۵
۱۴۰	۱۳۶	-۴	۱۶

$\sum d = -۳$ $\qquad$ $(\sum d)^2 = ۹$

$\sum d^۲ = ۹۱$ $\qquad$ $\overline{d} = \sum d / ۵ = -۳/۵ = -۰/۶$

$SD = \sqrt{(۹۱ - ۹/۵)/۴} = ۴/۷۲$ $\qquad$ $t_n = ۰/۶ \times \sqrt{۵} / ۴/۷۲ = ۰/۲۸$

چون عدد t به‌دست آمده از ۲/۷۸ (مقدار t برای ۵ نمونه) کمتر است، نتایج هموگلوبین دستگاه قابل قبول می‌باشد.

کنترل کیفی

عملکرد دستگاه‌های شمارنده سلولی روزانه پیش از انجام آزمایش بر روی نمونه بیماران، باید مورد ارزیابی قرار گیرد که بهترین و قابل قبول‌ترین روش، استفاده از خون کنترل می‌باشد. در کنار استفاده از خون کنترل، با توجه به وضعیت آزمایشگاه، تعداد نمونه‌ها، نوع سل کانتر به‌کار رفته، تعداد کارکنان و..... از روش‌های دیگر کنترل کیفی که در زیر آمده است نیز باید استفاده نمود:

- مقایسه روزانه نتایج دستگاه سل‌کانتر با گسترش خون محیطی
- مقایسه روزانه نتایج دستگاه سل‌کانتر با وضعیت بالینی بیمار
- انجام آزمایش‌های مضاعف یا دوتایی Duplicate بر روی تعدادی از نمونه‌های بیماران
- انجام آزمایش بازبینی (Check Test) برروی تعدادی از نمونه‌های بیماران (آزمایش ۴-۳ نمونه از سری کاری قبلی)
- بررسی تفاوت نتایج یک بیمار با آزمایش‌های قبلی خودش (Delta Check)
- محاسبه میانگین اندکس‌های خونی MCV، MCH، MCHC در گروه‌های ۵ تایی، ۱۰ تایی یا ۲۰ تایی
- تعیین محدوده خطی بودن دستگاه
- بررسی کنترل دقت هنگام راه‌اندازی، پس از سرویس و به‌صورت ماهانه
- بررسی صحت

- **نحوه استفاده از خون کنترل و رسم نمودار کنترل کیفی**

طبق توصیه‌های مراجع معتبر بین‌المللی خون‌شناسی، برای کنترل کیفی دستگاه‌های شمارنده سلولی می‌بایست در هر سری کاری، حداقل از دو نمونه خون کنترل در دامنه طبیعی و غیرطبیعی استفاده شود، بدین ترتیب که در ابتدای هر سری کاری نمونه کنترل طبیعی و غیرطبیعی و در پایان سری کاری نمونه طبیعی با سل کانتر آزمایش شده و نتایج ثبت گردد. با توجه به آنکه در

کشور ما دسترسی به خون کنترل در دامنه‌های مختلف برای همه آزمایشگاه‌ها به‌راحتی امکان‌پذیر نمی‌باشد، به‌طور معمول از خون کنترل در یک دامنه استفاده می‌شود.

نمونه خون کنترل هر روز صبح قبل از آزمایش نمونه‌های بیماران و به فواصل در طی روز در صورت نیاز، آزمایش شده و نتایج حاصله بر روی نمودار ثبت می‌شود. برای رسم نمودار، می‌بایست نمونه کنترل، به دفعات و در فواصل مختلف با دستگاه آزمایش شود تا حداقل ۲۰ خوانده برای هر پارامتر حاصل گردد. بهتر است این ۲۰ خوانده به صورت ۱ خوانده در هر روز باشد ولی چنانچه تعجیل در کار وجود دارد می‌توان این داده‌ها را در طی ۵ روز جمع‌آوری نمود به نحوی که در هر روز در چهار نوبت با فواصل زمانی مناسب، نمونه کنترل را به دستگاه داد. سپس با محاسبه میانگین و انحراف معیارهای ۱SD± ، ۲SD± و ۳SD± برای هر پارامتر، مقادیر آن‌ها بر روی محور عمودی و روزها بر روی محور افقی ثبت می‌گردد. تفسیر نمودار کنترل کیفی با توجه به طراحی کیفی آزمایشگاه، با استفاده از قوانین لوی جنینگ، سازمان بهداشت جهانی یا قوانین وستگارد انجام می‌شود. نکته مهم پیش از رسم نمودار کنترل کیفی، اطمینان از قابل قبول بودن میزان عدم دقت هر پارامتر در مقایسه با عدم دقت مجاز مربوطه، که در کتب مرجع درج گردیده است، می‌باشد که در صورت عدم توجه به آن ممکن است نموداری رسم شود که محدوده قابل قبول آن بیش از حد مجاز بوده و کاربر را در تفسیر نتایج کنترل کیفی به اشتباه بیندازد.

در دستگاه‌های سل‌کانتر جدید نمودار کنترل کیفی برای حداقل یک دوره‌ی یک ماهه توسط دستگاه رسم می‌گردد. بدیهی است دستگاه‌های با امکانات نرم‌افزاری بیشتر توان رسم نمودار کنترل کیفی و ذخیره آن برای انواع خون کنترل تا حداقل یک سال را دارا می‌باشند.

نکته: لازم به ذکر است کنترل کیفی دستگاه، صرفا با منطبق بودن نتایج خون کنترل با دامنه ذکر شده در بروشور مربوطه قابل قبول نمی‌باشد و استفاده از میانگین و دامنه مندرج در بروشور نیز جهت رسم نمودار توصیه نمی‌گردد و هر آزمایشگاه می‌بایست خود، با استفاده از روش ذکر شده در بالا نسبت به تعیین میانگین و دامنه برای رسم نمودار اقدام نماید.

برای آشنایی بیشتر تفسیر نمودار کنترل کیفی براساس قوانین سازمان بهداشت جهانی (WHO) و براساس قوانین وستگارد (Westgard) در جداول ۱۱-۱ و ۱۲-۱ به تفکیک و به صورت خلاصه توضیح داده می‌شود.

جدول ۱۱-۱: تفسیر نمودار کنترل کیفی براساس قوانین سازمان جهانی بهداشت WHO

نتایج خون کنترل	تفسیر
یک کنترل خارج از محدوده ۲SD±	**هشدار**، بروز خطای تصادفی یا شروع خطای سیستماتیک
یک کنترل خارج از محدوده ۳SD±	**رد نتایج**، بروز خطای تصادفی یا سیستماتیک
دو خوانده متوالی همسو و خارج از محدوده ۲SD±	**رد نتایج**، بروز خطای سیستماتیک
۴ خوانده متوالی و همسو، خارج از محدوده ۱SD+ یا ۱SD-	**رد نتایج**، بروز خطای سیستماتیک
۶ خوانده متوالی در یک طرف میانگین	**هشدار**، خطای سیستماتیک

جدول ۱۲-۱: تفسیر نمودار کنترل کیفی بر اساس قوانین Westgard

نتایج خون کنترل	تفسیر
$\mathbf{1_{2s}}$: یک کنترل خارج از محدوده ۲SD±	**هشدار**، لزوم بررسی سایر قوانین
$\mathbf{1_{3s}}$: یک کنترل خارج از محدوده ۳SD±	**رد نتایج**، نشاندهنده خطای تصادفی یا شروع خطای سیستماتیک
$\mathbf{2_{2s}}$: دوخوانده متوالی همسو و خارج از محدوده ۲SD±	**رد نتایج**، نشان دهنده خطای سیستماتیک
$\mathbf{R_{4s}}$: یک خوانده خارج از محدوده ۲SD+ و دیگری خارج از محدوده ۲SD-	**رد نتایج**، نشانگر خطای راندوم
$\mathbf{4_{1s}}$: ۴ خوانده متوالی و همسو، خارج از محدوده ۱SD+ یا ۱SD-	**رد نتایج**، نمایانگر خطای سیستماتیک
$\mathbf{10_x}$: ۱۰خوانده متوالی در یک طرف میانگین (بالا یا پائین میانگین و بدون توجه به اندازه انحراف)	**رد نتایج**، نشانگر خطای سیستماتیک

در صورت یافتن هر گونه خطا با استفاده از نمودار، پیش از انجام هراقدامی باید از عدم آلودگی یا خرابی محلول‌های مورد استفاده و نمونه کنترل اطمینان حاصل نمود. در صورت اطمینان از این امر پیش از برنامه ریزی برای کالیبراسیون دستگاه، باید اقدامات دیگری مانند شستشوی دستگاه، آزمایش مجدد نمونه، آزمایش بر روی نمونه خون کنترل دیگری با همان سری ساخت، بررسی وضعیت محلول های دستگاه و.... را مد نظر قرار داد.

- **مقایسه نتایج دستگاه سل‌کانتر با گسترش خون محیطی و یافته‌های بالینی**

به توصیه سازمان بهداشت جهانی بررسی نتایج دستگاه و مقایسه و مطابقت آن‌ها با مشاهده میکروسکوپی گسترش خونی و نیز یافته‌های بالینی بیمار می‌بایست از برنامه‌های دایم کنترل کیفی آزمایشگاه باشد. بدین ترتیب هر گونه نتیجه غیر قابل انتظار حاصل از دستگاه نظیر لکوسیتوز، لکوپنی، ترومبوسیتوپنی، هموگلوبین خیلی پایین یا بالا، اندکس‌های غیر طبیعی و.... می‌بایست پیش از گزارش، با مشاهده گسترش خون محیطی و یا بررسی وضعیت بالینی یا سابقه بیمار تایید گردد.

با مشاهده لام خون محیطی می‌توان به‌طور نسبی شمارش گلبول‌های سفید یا پلاکت دستگاه را نیز مورد ارزیابی قرار داد. در جدول ۱۳-۱ ارتباط میانگین تعداد سلول‌های شمارش شده در گسترش خون محیطی با تعداد تخمینی سلول‌ها نشان داده شده است. به‌عنوان مثال اگر در گسترش خون محیطی با عدسی شیئی (۴۰×) ۶-۳ گلبول سفید دیده شود، تعداد گلبول‌های سفید بین ۱۰-۷ هزار خواهد بود.

جدول ۱۳-۱: کنترل کیفی میکروسکوپی شمارش سلول‌های خونی با استفاده از یک گسترش خونی مناسب

میانگین تعداد گلبول‌های سفید شمارش شده در هر میدان دید با بزرگنمایی زیاد (۴۰×)	تعدادتخمینی گلبول‌های سفید ($\times ۱۰^{۹}$)		میانگین تعداد پلاکت‌های شمارش شده در هر میدان دید با بزرگنمایی زیاد (دید روغن ۱۰۰×)	تعداد تخمینی پلاکت‌ها ($\times ۱۰^{۹}$)
۲-۳	۳-۷		۲-۳	۵۰-۱۰۰
۴-۶	۷-۱۰		۴-۶	۱۰۰-۱۵۰
۷-۱۰	۱۰-۱۳		۷-۱۰	۱۵۰-۲۵۰
۱۱-۲۰	۱۳-۱۸		۱۱-۲۰	۲۵۰-۵۰۰

- **آزمون دوتایی (Duplicate)**

در صورت عدم امکان انجام تمامی آزمایش‌ها به‌صورت دوتایی (Duplicate)، می‌بایست در هر سری کاری به ازای هر ۲۰ نمونه یک نمونه به‌صورت مضاعف (Duplicate) آزمایش شود تا با بررسی اختلاف خوانده‌ها از طریق محاسبات آماری از وجود خطاهای تصادفی آگاه شویم. برای انجام آزمایش بر اساس برنامه کنترل کیفی آزمایشگاه در دوره زمانی مشخص یا بعد از کالیبراسیون و یا سرویس ابتدا حداقل ۳۰ نمونه به‌صورت دوتایی به دستگاه داده می‌شود و از فرمول زیر SD و CV به‌دست می‌آید. افزایش اختلاف بین دو خوانده بیش از 2SD (و یا 2CV)، احتمال وجود

خطای تصادفی را مطرح می‌نماید. فرمول زیر طریقه محاسبه SD نمونه‌های دوتایی را نشان می‌دهد:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}}$$

$$CV = \frac{SD}{\sum X / 2n}$$

مثال ۴-۱: اگر در ابتدای راه‌اندازی دستگاه مقدار هموگلوبین ۵ نمونه در دو بار اندازه‌گیری (Duplicate) به شرح جدول ۱۴-۱ باشد، مقادیر SD و CV پایه به صورت زیر محاسبه می‌شود:

لازم به ذکر است SD و CV حاصل از حداقل ۳۰ داده دوتایی در ابتدای یک دوره زمانی یا پس از سرویس یا کالیبراسیون به عنوان معیار قرار می‌گیرد. CV و SD به‌دست آمده تا زمانی که دستگاه از کالیبر خارج نشده است، معیار قابل قبول می‌باشند. سپس در هر سری کاری به ازای هر ۲۰ نمونه بایستی حداقل یک نمونه به صورت دوتایی مورد سنجش قرار گیرد.

در مثال ۴-۱ برای سهولت فقط ۵ نمونه مورد ارزیابی قرار گرفته است.

جدول ۱۴-۱: مقدار هموگلوبین ۵ نمونه در دو بار اندازه‌گیری

	اندازه‌گیری اول (gr/L)	اندازه‌گیری دوم (gr/L)	D	$d^۲$
	۱۱۸	۱۲۰	۲	۴
	۱۶۰	۱۶۲	۲	۴
	۱۰۵	۹۵	۱۰	۱۰۰
	۱۳۰	۱۳۰	۰	۰
	۱۴۰	۱۳۸	۲	۴
مجموع	ΣX1=۶۵۳	ΣX2= ۶۴۵	ΣX= ΣX1+ΣX2= ۱۲۹۸	Σd^2=۱۱۲

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}} = \sqrt{۱۱۲/۱۰} = ۳/۳۴ \qquad ۲SD=۶/۷ \qquad \sum X=۱۲۹۸$$

$$CV = \frac{SD}{\Sigma X/2n} = ۳/۳۴/(۱۲۹۸/۱۰) = ۰/۰۲۵ = ٪۲/۵ \qquad ۲CV=٪۵$$

تفاوت بیش‌تر از ۲SD بین دو نتیجه آزمایش (و یا در صورت استفاده از CV بیش‌تر بودن مقدار ($۱۰۰\times\frac{2(X1-X2)}{X1+X2}$) از ۲CV نمایانگر بروز خطای تصادفی و لزوم تکرار آزمایش بر روی همان نمونه می‌باشد. در حال حاضر منابع معتبر خون‌شناسی استفاده از CV را در تفسیر این آزمون پیشنهاد می‌کنند. دلیل این امر جواب‌های مثبت و منفی کاذبی است که در بعضی موارد در تفسیر با روش SD مشاهده است، این موضوع در مثال ۵-۱ با توضیح بیشتری بیان می‌شود.

مثال ۵-۱: اگر در آزمون دوتایی روزانه داده‌های زیر را داشته باشیم و SD و CV معیار از جدول ۱۴-۱ استخراج شده باشد (در ابتدای راه‌اندازی دستگاه)، در هر یک از دوتایی‌های زیر، قابل قبول بودن مقادیر با استفاده از SD و یا CV به صورت زیر بررسی می‌شود:

دوتایی اول : ۹۸ و ۱۰۳ $d_۱$=۱۰۳-۹۸=۵

دوتایی دوم: ۱۵۰ و ۱۵۷ $d_۲$=۱۵۷-۱۵۰=۷

دوتایی سوم: ۵۰ و ۵۶ $d_۳$=۵۶-۵۰=۶

برای دو تایی اول مقدار $d_۱$=۱۰۳-۹۸=۵ می‌باشد که این مقدار از ۲SD=۶/۷ کمتر است و جواب قابل قبول خواهد بود. هم‌چنین در صورت استفاده از CV مقدار $D_۱=۱۰۰\times\frac{2(X1-X2)}{X1+X2}$=۴/۹۹ که از ۲CV=۵٪ کمتر است بنابراین، این دوتایی در هر دو روش قابل قبول می‌باشد.

اما در مورد دوتایی دوم مقدار $d_۲$=۱۵۷-۱۵۰=۷ که در صورت استفاده از SD این مقدار از ۲SD=۶/۷ بیشتر است که در صورت استفاده از روش ۲SD، این دوتایی غیرقابل قبول است. اما در صورت استفاده از CV، مقدار $D_۲=۱۰۰\times\frac{2(X1-X2)}{X1+X2}$=۴/۷ می‌باشد که از ۲CV=۵ کمتر و قابل قبول است. یعنی این‌کـه اگر در این حالت از روش SD استفاده می‌کردیم، جواب قابل قبول رد می‌گردید. اما در دوتایی سوم مقدار ۶/۷= ۲SD<۶ = $d_۳$ و $D_۳$ =۱۱/۳>۲CV خواهد بود. یعنی در صورت استفاده از SD، جواب قابل قبول، اما در صورت استفاده از CV جواب‌ها غیرقابل قبول خواهند بود. به‌طور خلاصه متوجه می‌شویم استفاده از SD به‌عنوان یک عدد ثابت در دامنه‌های مختلف بالا، طبیعی و پایین روش مناسبی نمی‌باشد. به همین دلیل منابع معتبر، استفاده از CV را پیشنهاد نموده‌اند که دامنه‌های مختلف بالا و پایین را در محاسبات منظور نموده و از اطمینان و اعتبار بیشتری نسبت به SD برخوردار می‌باشد.

- **آزمایش بازبینی (Check Test)**

یکی دیگر از روش‌های کنترل کیفیت آزمایش بازبینی (Check Test) است که درصورت نگه‌داری نمونه‌ها در دمای مناسب (یخچال) قابل اجرا می‌باشد. بدین‌ترتیب که در ابتدای سری کاری یا صبح ۳ یا ۴ نمونه پس از آزمایش در یخچال نگه‌داری شده و در انتهای سری کاری و یا بعد از ظهر مجددا مورد آزمایش قرار گرفته و نتایج حاصل از این دو آزمایش با استفاده از فرمول آزمون دوتایی مورد بـررسی قـرار گرفته که اختلاف نتایج در محدوده ۲SD (یا ۲CV) قابل قبول می‌باشد. اگر نمونه‌ها درست نگه‌داری شده باشند هرگونه تغییری در نتایج خارج از این محدوده نشان دهنده اشکال در عملکرد دستگاه و یا معرف‌ها می‌باشد. این آزمایش برای بررسی هموگلوبین مناسب بوده و به میزان کمتر بـرای شمـارش گلبول‌هـای قـرمـز و سفید کـاربـرد دارد ولـی برای شاخص‌های دیگر به‌خصوص اگر فاصله زمانی آزمایش نمونه‌ها بیش از ۶ ساعت باشد کارایی ندارد.

- **Delta Check**

مقایسه مقادیر به‌دست آمده از یک نمونه با نتایج قبلی نمونه همان فرد (Delta Check) به‌عنوان روشی جهت کنترل کیفی به‌کار می‌رود البته فاصله زمانی بین دو آزمایش نباید بیش از دو تا سه هفته باشد. در صورت استفاده از این روش می‌بایست به نکاتی نظیر تغییرات فیزیولوژیک طبیعی و روزانه پارامترهای خونی و هم‌چنین مواردی نظیر ابتلا فرد به بیماری و یا استفاده از دارو به دلایل مختلف که باعث تغییر شمارش سلول‌ها می‌گردند توجه داشت. با توجه به تغییرات روزانه طبیعی مقادیر خون در یک فرد، وجود اختلافات واضح بیش از مقادیر ذکر شده در جدول ۱۵-۱ نشان دهنده خطا می‌باشد.

جدول ۱۵-۱: مقادیر خطا در آموزه دلتا چک براساس شاخص‌های مختلف

شاخص	دامنه اختلاف غیرقابل قبول
Hb	۲ gr/dL
HCT	۵ %
MCV	>۶ fL
MCH	>۵ pg
WBC	طبیعی به غیرطبیعی
Platelets	کاهش یا افزایش بیش از ۵٪

- **میانگین متحرک**

به‌دلیل ثابت بودن مقادیر میانگین شاخص‌های گلبولی MCH، MCV و MCHC در فواصل روزها و هفته‌ها، می‌توان از این شاخص‌ها به‌منظور ارزیابی کیفیت عملکرد دستگاه شمارنده در آزمایشگاه‌هایی که حداقل روزی ۱۰۰ نمونه CBC پذیرش می‌کنند، استفاده نمود. بررسی‌ها نشان می‌دهند، درصورتی که نمونه‌های CBC مورد آزمایش در روزهای مختلف از نظر میزان اندکس‌های خونی تفاوت مشخصی با یکدیگر نداشته باشند که به تاثیر بارز بر میانگین‌ها منجرشود، مانند پذیرش نمونه‌های افراد مبتلا به فقر آهن یا تالاسمی در یک روز خاص در هفته که باعث کاهش شاخص‌های گلبولی می‌شوند، هرگونه تغییر مشخص در میانگین اندکس‌ها نشان‌دهنده تغییر در کالیبراسیون یا اختلال عملکرد دستگاه است. برای استفاده از این روش، ابتدا باید میانگین و SD± اندکس‌های MCH، MCV و MCHC حداقل ۳۰۰ تا ۵۰۰ نمونه را محاسبه و سپس نمودار کنترل کیفی را رسم نمود. درصورت مراجعه بیمارانی که اندکس‌های خونی طبیعی ندارند، مانند مبتلایان به بیماری‌های ذکرشده، نتایج اندکس‌های گلبولی آن‌ها نباید در محاسبه میانگین لحاظ

شود. پس از رسم نمودار، نمونه‌های بیماران را روزانه به گروه‌های بیست تایی (ده تایی و یا پنج تایی) تقسیم کرده و پس از محاسبه میانگین شاخص‌های گلبولی این گروه و ثبت این میانگین روی نمودار، هرگونه انحراف از مقادیر مجاز (۲SD) را می‌توان نمایانگر عملکرد نامناسب دستگاه دانست. برای اطمینان از درست بودن این روش، انتخاب گروه‌های بیست تایی (ده‌تایی یا...) نمونه‌ها، باید به صورت تصادفی باشد و در هر دسته نیز بیش از ۷ نمونه دارای شرایط بالینی یکسان نباشند. این روش کنترل کیفی به‌صورت برنامه‌های نرم‌افزاری روی بعضی دستگاه‌ها نصب شده است. پیشنهاد می‌شود هر مرکز، مقادیر جمع‌آوری شده طبیعی در بازه زمانی دلخواه را به صورت تجمعی، جایگزین میانگین و SD اولیه نماید تا محاسبات دقیق‌تری به‌دست آید.

- **کنترل دقت**

بررسی دقت دستگاه به دوصورت قابل انجام می‌باشد. درصورت استفاده از خون کنترل، می‌توان با استفاده از نتایج حاصله از نمونه کنترل که طی روزهای متوالی با دستگاه آزمایش شده، CV هر پارامتر را محاسبه نمود. در صورت عدم دسترسی به خون کنترل، باید از نمونه‌های روزانه برای این امر استفاده نمود، بدین‌ترتیب که هر ماه دو یا بیشتر نمونه را حداقل ده بار به‌صورت متوالی با سل کانتر آزمایش نموده و از نتایج بدست آمده CV هر پارامتر را محاسبه نمود. توصیه می‌شود بررسی عدم دقت دستگاه خصوصا هنگام نصب و راه‌اندازی، با استفاده از نمونه‌هایی با دامنه‌های طبیعی و غیرطبیعی صورت گیرد. برای تهیه نمونه غیر طبیعی پایین، می‌توان پلاسمای نمونه طبیعی را جدا نموده و با اضافه نمودن آن به حجمی از همان نمونه، نسبت به رقیق نمودن آن اقدام نمود. نمونه خون با دامنه غیر طبیعی بالا را نیز می‌توان با نگه‌داری ظرف نمونه به‌مدت ۲ ساعت با زاویه ۴۵° و برداشتن نیمی از پلاسمای رویی پس از این مدت و مخلوط نمودن کامل خون تهیه نمود. در صورت عدم مطابقت CV هر پارامتر با ادعای دستگاه که در کاتالوگ مربوطه آمده است تماس با شرکت پشتیبان ضروری می‌باشد.

مثال ۶-۱: اگر نتایج شمارش گلبول‌های سفید یک نمونه توسط دستگاه سل‌کانتری به قرار زیر باشد، میزان عدم دقت دستگاه برای شمارش مورد فوق به روش زیر محاسبه می‌گردد:

جدول ۱۶-۱- نتایج شمارش گلبول‌های سفید برای محاسبه عدم دقت در مثال ۶-۱

WBC count	$(x-\bar{x})$	$(x-\bar{x})^2$
۷/۶	-۰/۰۳	۰/۰۰۰۰۹
۷/۵	-۰/۱۳	۰/۰۱۷
۷/۸	۰/۱۷	۰/۰۲۹
۷/۶	-۰/۰۳	۰/۰۰۰۹
۷/۵	-۰/۱۳	۰/۰۱۷
۷/۹	۰/۲۷	۰/۰۷۳
۷/۵	-۰/۱۳	۰/۰۱۷
۷/۶	-۰/۰۳	۰/۰۰۰۹
۷/۵	-۰/۱۳	۰/۰۱۷
۷/۸	۰/۱۷	۰/۰۲۹
$\sum x$= ۷۶/۳ $\bar{x}$ = ۷/۶۳		$\Sigma(x-\bar{x})^2$=۰/۲۰۱

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}}$$

SD= $\sqrt{۰/۰۲۰۱ / ۹}$=۰/۱۴۸

$$CV\% = \frac{SD\times 100}{\bar{x}}$$

CV= (۰/۱۴۸ / ۷/۶۳) ×۱۰۰ = ٪۱/۹

- **تعیین محدوده خطی بودن دستگاه**

از آنجا که در شمارش نمونه‌هایی که تعداد سلول‌های خونی آن‌ها بسیار بالاست، پدیده خطای همزمانی (Concidence Error) که شامل عبور چند سلول با یکدیگر از دریچه است، افزایش می‌یابد و نتایج کمتر نشان داده می‌شود و هم‌چنین در نمونه‌های بسیار رقیق نسبت سیگنال‌های زمینه به سیگنال‌های واقعی زیاد شده و نتیجه بیش از مقدار واقعی اندازه‌گیری می‌شوند، بنابراین باید محدوده خطی بودن دستگاه را در نظر بگیریم. برای تعیین این محدوده از سه روش زیر استفاده می‌شود.

لازم به ذکر است این آزمون باید پس از هر بار تعمیرات اساسی دستگاه و پس از هر بار سرویس انجام شود.

۱- خون کنترل را در رقت‌های مختلف تهیه کرده و نتایج آن‌را با نتایج مورد انتظار بررسی کنید. البته این روش فقط برای بررسی خطی بودن در صورت رقیق شدن نمونه مناسب است.

۲- مقداری خون با حجم کافی را سانتریفیوژ کرده، بخشی از پلاسمای آن را خارج کنید سپس با محلول ایزوتونیک یا با پلاسمای خود فرد رقت‌های مختلفی از خون را تهیه کنید جهت بررسی صحت، رقیق‌سازی غلظت هموگلوبین هر نمونه باید با روش سیان مت هموگلوبین انجام شده و با مقدار مورد انتظار مقایسه گردد. با توجه به تشابه ماتریکس، استفاده از پلاسمای فرد نسبت به

محلول ایـزوتـونیـک خطـای رقیـق سـازی را کاهـش خواهد داد، لذا پیشنهاد می‌شود در این مورد حتی‌المقدور از پلاسما استفاده گردد.

سپس تمامی رقت‌های تهیه شده را به دستگاه داده و با مقادیر مورد انتظار مقایسه و محدوده خطی بودن را تعیین نمایید.

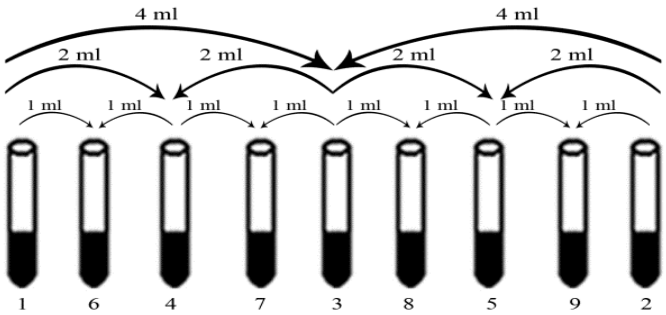
در این روش نمونه مبنا، نمونه میانی می‌باشد. نحوه محاسبه مقادیر مورد انتظار و تفسیر آن، در بخش محدوده خطی بودن دستگاه خودکار شیمی (اتوآنالایزر) به صورت کامل بیان گردیده است. یکی از اشکالات عمده در این روش، اشکال در تهیه رقت دوم و سوم به دلیل عدم برداشت مناسب و درست از نمونه غلیظ (RBC و بافی‌کوت) به‌دلیل غلیظ بودن آنهاست. به همین دلیل روش سوم به‌عنوان روش کاربردی پیشنهاد شده است.

۳- روش سوم مشابه روشی است که در برنامه نرم‌افزاری Multiqc درمبحث خطی بودن اتوآنالایزر ارایه شده است و اگرچه در منابع معتبر خون‌شناسی، مستندی در این خصوص بیان نشده اما خوشبختانه گروهی از نویسندگان این مجموعه با آزمایش عملی در مراکز مختلف از درستی این روش اطمینان یافته‌اند. برای سادگی بیشتر و کاربردی بودن، مقادیر زیر به‌صورت پیشنهادی ارایه می‌شود.

در ابتدا مقدار ۳۰ میلی‌لیتر خون از فرد طبیعی تهیه می‌شود. خون را سانتریفیوژ کرده و به آرامی ۹ میلی‌لیتر از پلاسما و به همین میزان محلول ته‌نشین شده RBC و بافی‌کوت را به ترتیب در دو لوله ۱ و ۲ بریزید.

سپس از هر یک از لوله‌های ۱ و ۲، مقدار ۴ میلی‌لیتر (حجم مساوی) در لوله شماره ۳ ریخته کاملا مخلوط نمایید. به ترتیب ۲ میلی‌لیتر از لوله شماره ۳ و لوله شماره ۱ (حجم مساوی) در لوله شماره ۴ و به همین مقدار از لوله شماره ۲ و ۳ در لوله شماره ۵ ریخته و مجددا به‌طور کامل مخلوط نماییـد. سپس ۱ میلی‌لیتر از لـولـه شماره ۱ و ۴ در لـولـه شمـاره ۶ و همین حجـم (۱ میلی‌لیتر) از لوله‌های شماره ۳ و ۴ در لوله شماره ۷ و همین مقدار از لوله‌های شماره ۵ و ۳ در لوله شماره ۸ و از لوله‌های شماره ۲ و ۵ در لوله شماره ۹ ریخته و به خوبی مخلوط نمایید.

خلاصه مراحل فوق در شکل ۶-۱ بیان شده است.



شکل ۶-۱: مراحل تهیه نمونه‌های رقیق شده جهت بررسی آزمون خطی بودن

حجم‌های ذکر شده پیشنهادی است و هر مرکز می‌تواند با توجه به امکانات از حجم‌های کمتر یا بیشتر استفاده نماید. اما اصل اساسی این است که حجم‌های برداشتی به صورت مساوی بوده و مراحل کار به صورت کامل اجرا شود، به‌طوری که اختلاف مقادیر مورد انتظار در لوله‌های متوالی با هم برابر باشد. در این حالت شاخص‌های لوله میانی (لوله شماره ۳) را به عنوان مبنا قرار داده و میانگین اختلاف آن‌ها با لوله شماره ۵ و ۴ را بر دو تقسیم کرده و این عدد اختلاف مقادیر مورد انتظار با یکدیگر در لوله‌های متوالی است که باید از لوله میانی به ترتیب در سمت راست به هر یک از لوله‌ها اضافه و در سمت چپ از هر یک لوله‌ها کم نمایید.

مثال ۷-۱: اگر مقادیر هموگلوبین در آزمون خطی بودن لوله‌های شماره ۳ و ۵ و ۴ به ترتیب ۱۲gr/dL، ۱۶/۱gr/dL و ۸gr/dL پس از اندازه‌گیری با دستگاه باشد، شاخص هموگلوبین و مقادیر مورد انتظار در تمامی لوله‌ها به صورت زیر محاسبه می‌شود:

مقدار مبنا برابر با مقدار اندازه‌گیری شده در لوله شماره ۳ و به عبارتی برابر با ۱۲gr/dL است. هم‌چنین تفاوت هموگلوبین لوله‌های ۴ و ۵ با لوله شماره ۳ به ترتیب ۳/۹ و ۴/۱ گرم در دسی‌لیتر است که میانگین آن ۴gr/dL خواهد بود و نصف آن ۲gr/dL می‌شود. این مقدار، تفاوت میزان هموگلوبین در لوله‌های متوالی است که اگر از لوله میانی یعنی لوله شماره ۳ به بالا به ترتیب اضافه کنید اعداد ۱۲، ۱۴، ۱۶، ۱۸ و ۲۰ و اگر در لوله‌های سمت چپ کم کنید به ترتیب اعداد ۱۰، ۸، ۶ و ۴ به‌دست می‌آید، این اعداد مقادیر مورد انتظار هریک از لوله‌ها می‌باشند. حال در صورت دسترس بودن نرم افزار مذکور صرفا مقادیر اندازه‌گیری شده را وارد نموده و محدوده خطی دستگاه را تعیین نمایید. در صورت عدم دسترسی به این نرم‌افزار مقادیر مورد انتظار و اندازه‌گیری شده را با یکی از روش‌های ذکر شده که در بخش محدوده خطی بودن دستورالعمل فنی اتوآنالایزر بیان شده است، محاسبه و در نهایت این محدوده را تعیین نمایید.

• بررسی Carry Over

معمولا در بسیاری از دستگاه‌ها معمولاً وقتی یک نمونه با غلظت بالا و به دنبال آن نمونه دیگری با غلظت پایین مورد سنجش قرار می‌گیرد، مقداری انتقال ناخواسته از نمونه با غلظت بالا به غلظت پایین وجود دارد که به آن Carry Over گفته می‌شود. این انتقال بسته به نوع دستگاه و آنالیت انواع مختلفی دارد که در قسمت اتوآنالایزر به‌طور کامل بحث گردیده است. اما انتقال ناخواسته از نوع نمونه به نمونه در دستگاه‌های شمارنده سلول‌های خونی بیشتر مورد توجه قرار می‌گیرد. لذا پیشنهاد می‌شود آزمایشگاه‌ها میزان اثر Carry Over را در ابتدای راه‌اندازی و پس از هر سرویس محاسبه و با مقدار درج شده در کتابچه راهنمای دستگاه مقایسه کنند. بدیهی است میزان اثر Carry Over به‌دست آمده بایستی از مقدار اثر Carry Over مندرج در کتابچه کمتر باشد. روش محاسبه این آزمون در مبحث آزمون Carry Over اتوآنالایزر به‌طور کامل مورد بررسی قرار گرفته است.

بررسی صحت

روش‌های ذکر شده جزیی از برنامه‌های کنترل داخلی کیفیت هستند و به منظور بررسی تکرارپذیری مناسب آزمایش‌ها انجام می‌شوند، ولی تکرارپذیری مناسب همواره نشان دهنده صحت نتایج نیست. برای ارزیابی صحت عملکرد تجهیزات و روش‌های آزمایش، باید از روش‌های دیگری نظیر استفاده از استاندارد، کالیبراتور و یا شرکت در برنامه‌های کنترل خارجی کیفیت استفاده کرد. با توجه به عدم دسترسی به کالیبراتور و استانداردهای مناسب در کشور، در حال حاضر شرکت در برنامه ارزیابی خارجی کیفیت، مهم‌ترین روش بررسی صحت می‌باشد. هدف برنامه ارزیابی خارجی کیفیت، ایجاد هماهنگی بین نتایج آزمایشگاه‌ها است. در این برنامه، نمونه‌های مجهول از مرکز اجرای برنامه به آزمایشگاه‌های شرکت کننده فرستاده می‌شود. آزمایشگاه‌ها پس از انجام آزمایش‌های لازم روی نمونه‌ها، نتایج را جهت‌پردازش به مرکز اجرای برنامه ارسال می‌نمایند. پس از حذف نتایج خارج از محدود ±2SD تا ±3SD میانگین، در مرکز ذکر شده نتایج مورد پردازش آماری قرار می‌گیرد به نحوی که نتایج هر آزمایشگاه با میانگین نتایج کل آزمایشگاه‌ها مقایسه و به صورت DI (Deviation Index) گزارش می‌شود:

$$DI = \frac{x-\bar{x}}{SD}$$

$\bar{x}$: میانگین گروه

x : نتیجه هر آزمایشگاه

SD : انحراف معیار مجاز هر پارامتر

نحوه تفسیر:

DI<۱ = نتیجه مناسب

۱<DI<۲ = قابل قبول اما بینابینی

۲<DI<۳ = نیاز به بررسی روش آزمایش و یا کالیبراسیون

DI> ۳ = نیاز به اقدام فوری

وجود علایم جبری مثبت و منفی در کنار مقدار کمی DI، نشان‌دهنده پایین بودن یا بالا بودن نتایج آزمایشگاه نسبت به میانگین آزمایشگاه‌ها می‌باشد.

نکته: هر آزمایشگاه علاوه بر تهیه دستورالعمل کنترل کیفی داخلی و چگونگی تفسیر و استفاده از نتایج آن، باید دستورالعملی نیز برای انجام آزمایش‌های ارزیابی خارجی کیفیت و بر خورد با نتایج آن تدوین نماید.

خطاهای دستگاه‌های شمارش‌گر خودکار سلول‌های خونی

اگرچه استفاده از دستگاه‌های شمارنده سلولی در آزمایشگاه‌ها در مقایسه با روش‌های دستی، تکرارپذیری یا دقت نتایج حاصل را به میزان قابل توجهی بهبود بخشیده است، ولی صحت نتایج حاصل ممکن است به دلایل گوناگون همواره قابل اطمینان نباشد. بنابراین، کاربر دستگاه علاوه بر آشنایی با نحوه کار، نگه‌داری، کالیبراسیون و کنترل کیفی دستگاه، باید از تمام عللی که منجر به خطا در شمارش یا اندازه‌گیری پارامترهای خونی توسط دستگاه شمارنده می‌شود، نیز آگاه باشد.

گروهی از این خطاها ناشی از نحوه طراحی دستگاه‌ها برای شمارش سلول‌ها است، به‌طور مثال عبور همزمان دو سلول از بین دو الکترود که به ایجاد یک پالس و در نتیجه، شمارش یک سلول به جای دو سلول منجر می‌شود یا مواردی که سلول‌ها پس از عبور از بین دو الکترود و شمارش اولیه، مجددا وارد سیکل شمارش شده و دوباره شمارش می‌شوند. در شرایطی نیز که بنا به دلایل مختلف آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز رخ می‌دهد، گلبول‌های به هم چسبیده در دستگاه به‌عنوان یک سلول بزرگ شمارش می‌شوند. شمارش حباب‌های هوا، قطرات چربی، میکروارگانیسم‌ها یا ذرات خارجی به‌عنوان یک سلول نیز از موارد دیگر خطا در دستگاه‌ها هستند.

در زیر به موارد دیگری که ممکن است بالقوه موجب اختلال در شمارش دستگاه شوند، اشاره می‌شود:

- افزایش شمارش گلبول‌های سفید بیش از $۳۰\times۱۰^{۹}/L$ معمولا به‌دلیل ایجاد کدورت باعث افزایش کاذب، ولی جزیی در هموگلوبین و هم‌چنین، افزایش کاذب هماتوکریت و MCV می‌شود.
- افزایش غلظت گلوکز (بیش از ۴۰۰mg/dL و افزایش اسمولالیته خون ناشی از سایر علل ممکن است سبب افزایش کاذب MCV و هماتوکریت و کاهش MCHC شود. برای رفع این خطا خون باید پیش از انجام آزمایش ده دقیقه با ایزوتون انکوبه شود.
- آگلوتینین‌های سرد با تیترهای بالا، به‌طور کاذب باعث کاهش شمارش گلبول‌های قرمز و افزایش MCV و MCHC می‌شوند که با گرم کردن خون یا استفاده از محلول رقیق‌کننده این مشکل حل می‌شود.
- در بعضی از انواع لوسمی‌ها که گلبول‌های سفید شکننده هستند، شمارش آن‌ها به‌طور کاذب کاهش نشان می‌دهد که در این موارد، شمارش با هماسیتومتر کمک‌کننده است.
- سطوح بسیار بالای چربی باعث کدرشدن پلاسما و در نتیجه افزایش کاذب مقدار هموگلوبین، MCH و MCHC می‌شود. برای حل این مشکل، اندازه‌گیری هموگلوبین باید به روش دستی و با افزودن حجم مناسبی از پلاسمای بیمار به بلانک و صفرکردن دستگاه اسپکتروفتومتر با آن انجام شود.

در ادامه به موارد بیش‌تری از خطاها اشاره می‌شود که ممکن است به نادرست بودن نتایج دستگاه‌های شمارنده سلولی خودکار منجر شوند. کاربر دستگاه علاوه بر آشنایی با موارد مندرج در جدول‌های ۱۷-۱ تا ۲۲-۱ باید از نحوه رفع این خطاها نیز آگاه باشد.

جدول ۱۷-۱: برخی از دلایل افزایش کاذب هموگلوبین

نوع خطا	علت خطا
افزایش کاذب هموگلوبین	۱- تعداد زیاد گلبول‌های سفید ۲- افزایش چربی خون اندوژن یا به دلیل تغذیه از راه ورید ۳- کرایوگلوبولینمی ۴- پاراپروتئین یا هیپرگاماگلوبولینمی

جدول ۱۸-۱: برخی از دلایل خطا در شمارش‌های سلولی دستگاه‌های خودکار شمارنده سلولی

نوع خطا	علت خطا
خطا در جمع‌آوری یا ذخیره نمونه	۱- نمونه‌گیری از بیمار دیگر ۲- نمونه خون با برگه درخواست بیمار دیگر ۳- رقیق بودن نمونه ۴- استفاده از EDTA بسیار غلیظ ۵- غلیظ بودن نمونه به علت استفاده طولانی مدت از تورنیکه ۶- لخته‌شدن قسمتی از نمونه ۷- همولیز نمونه ۸- بیش از حد گرم یا منجمد کردن نمونه ۹- نمونه خون کهنه ۱۰- نمونه آلوده به چربی زیر جلد
خطا در مکش نمونه توسط دستگاه	۱- خطا در شست‌وشو و آماده‌سازی دستگاه ۲- مخلوط شدن ناکافی نمونه ۳- انسداد مسیر پروب دستگاه (به طور مثال، توسط لخته که از نمونه قبلی به جای مانده است) ۴- تداخل نمونه بسیار غیرطبیعی قبلی با نمونه فعلی (این مورد در دستگاه-های جدید به حداقل رسیده است)
خطا در کالیبراسیون	۱- استفاده از مواد کنترل به‌عنوان کالیبراتور یا خطا در تعیین مقادیر پارامترها برای کالیبراسیون
علل منجر به اختلال در عملکرد دستگاه	۱- نگه‌داری نامناسب دستگاه ۲- استفاده از منبع برق نامناسب ۳- عدم استفاده از سیم ارت مناسب ۴- خراب شدن معرف‌ها به دلایل مختلف
عدم صحت اندازه‌گیری دستگاه‌ها به دلیل ماهیت برخی روش‌های اندازه‌گیری که برای دستگاه طراحی شده	۱- تعیین میزان MCV کمتر از مقدار واقعی در صورت وجود گلبول‌های قرمز هیپوکروم در دستگاه‌های امپدانس ۲- ناتوانایی شناسایی سلول‌ها در صورت کمبود آنزیم پراکسیداز
عدم صحت عملکرد دستگاه به دنبال وجود ویژگی‌های خاص در نمونه	۱- خطا در تعیین میزان هموگلوبین و اندکس‌های گلبولی به دلیل وجود آگلوتینین‌های سرد با افزایش چربی خون ۲- نوتروپنی کاذب در صورت کمبود آنزیم پراکسیداز

جدول ۱۹-۱: برخی از دلایل ایجاد خطا در تعیین مقادیر MCH و MCHC

نوع خطا	علت خطا
افزایش کاذب MCH	۱- افزایش کاذب هموگلوبین ۲- کاهش کاذب تعداد گلبول‌های قرمز ۳- همولیز داخل عروقی با هموگلوبین آزاد در پلاسما
افزایش کاذب MCHC یا مشخص نشدن کاهش واقعی MCHC	۱- افزایش کاذب هموگلوبین ۲- همولیز داخل عروقی با هموگلوبین آزاد در پلاسما یا لیز گلبول‌های قرمزخارج بدن ۳- کاهش کاذب هماترکریت، MCV یا گلبول‌های قرمز ۴- شرایط هیپواسمولار
کاهش کاذب MCHC	۱- افزایش کاذب MCV (غیر از مواردی که علت آن آگلوتینین‌های سرد باشد) ۲- افزایش کاذب تعداد گلبول‌های قرمز به دلیل وجود تعداد زیاد پلاکت‌های ژانت ۳- شرایط هیپراسمولار

جدول ۲۰-۱: برخی از دلایل ایجاد خطا در شمارش گلبول‌های قرمز، میزان هماتوکریت و MCV

نوع خطا	علت خطا
افزایش کاذب تعداد گلبول‌های قرمز	۱- وجود پلاکت‌های درشت به تعداد زیاد ۲- افزایش چربی خون (ناپایدار) ۳- کرایوگلوبولینمی ۴- کرایوفیبرینوژنمی
کاهش کاذب تعداد گلبول‌های قرمز	۱- پان‌آگلوتیناسیون ناشی از ایجاد آگلوتینین‌های سرد وابسته به EDTA ۲- لیز گلبول‌های قرمز خارج از بدن به دنبال نگه‌داری نامناسب نمونه با وجود گلبول‌های قرمز غیرطبیعی ۳- میکروسیتوز بسیار شدید یا تکه تکه شدن گلبول‌های قرمز در بعضی بیماری‌ها
افزایش کاذب MCV	۱- نگه‌داری خون در دمای اتاق ۲- آگلوتینین‌های سرد و آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز وابسته به EDTA ۳- تعداد زیاد گلبول‌های سفید ۴- شرایط هیپراسمولار ۵- K2EDTA اضافی
کاهش کاذب MCV	۱- گلبول‌های قرمز هیپوکرومیک ۲- افزایش دمای اتاق ۳- شرایط هیپراسمولار ۴- مخلوط کردن مکرر نمونه که باعث افزایش اکسیژناسیون گلبول‌های قرمز می‌شود
افزایش کاذب هماتوکریت	۱- افزایش کاذب MCV (غیر از مواقعی که به‌دنبال آگلوتینین‌های سرد رخ می‌دهد) ۲- کاهش کاذب تعداد گلبول‌های قرمز
کاهش کاذب هماتوکریت	۱- کاهش کاذب میزان MCV ۲- کاهش کاذب گلبول‌های قرمز به دلیل میکروسیتوز بسیار شدید یا لیز گلبول‌های قرمز خارج بدن ۳- آگلوتینین سرد ۴- مخلوط کردن مکرر نمونه که باعث افزایش اکسیژناسیون گلبول‌های قرمزمی‌شود

جدول ۲۱-۱: برخی از دلایل ایجاد خطا در شمارش پلاکت

نوع خطا	علت خطا
پایین‌بودن کاذب شمارش پلاکت‌ها	۱- لخته شدن نسبی نمونه ۲- فعال‌شدن پلاکت‌ها در حین خون‌گیری و تجمع آن‌ها ۳- تجمع پلاکتی ایجاد شده توسط EDTA ۴- Platelet Satellitism ۵- پلاکت‌های ژانت که اندازه آن‌ها از آستانه تعیین شده برای پلاکت‌ها بیشتر باشد
بالابودن کاذب شمارش پلاکت‌ها	۱- گلبول‌های قرمز میکروسیت یا تکه تکه شده ۲- گلبول‌های سفید خرد شده ۳- بیماری هموگلوبین H ۴- کرایوگلوبولین ۵- هیپرتری گلیسریدمی یا هیپرلیپیدمی ۶- وجود میکروارگانیسم‌ها در نمونه خون ۷- گرم‌کردن ناخواسته خون

جدول ۲۲-۱: برخی از دلایل افزایش و کاهش کاذب تعداد گلبول‌های سفید

نوع خطا	علت خطا
افزایش کاذب تعداد گلبول‌های سفید	۱- وجود گلبول قرمز هسته‌دار ۲- پلاکت‌های ژانت به تعداد زیاد ۳- لیز نشدن گلبول‌های قرمز ۴- اورمی ۵- نمونه از جنین یا نوزاد ۶- هموگلوبین‌های غیرطبیعی (مثل AA,SS,AC,AE,AD,AO-Arab) ۷- بیماری‌های کبدی ۸- آگلوتینین‌های سرد ۹- سندرم‌های میلودیسپلاستیک ۱۰- آنمی مگالوبلاستیک ۱۱- بعد از برداشتن طحال ۱۲- تجمع پلاکتی ۱۳- کرایوگلوبولینمی و کرایوفیبرینوژنمی ۱۴- پاراپروتئینمی

ادامه جدول ۲۲-۱: برخی از دلایل افزایش و کاهش کاذب تعداد گلبول‌های سفید

نوع خطا	علت خطا
	۱۵- وجود رشته‌های فیبرین ۱۶- افزایش چربی خون ۱۷- آلوده شدن نمونه به چربی زیرجلدی ۱۸- وجود انگل مالاریا ۱۹- هموگلوبین‌های ناپایدار
کاهش کاذب تعداد گلبول‌های سفید	۱- لیز سلول‌ها به دلیل ماندن خون بیش از ۳ روز ۲- نگه‌داری نمونه در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت ۳- تجمع گلبول‌های سفید یا گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها به دنبال وجود آنتی‌بادی یا تغییر در غشاء سلولی یـا وجـود سلول‌های نئوپلاستیک با ویژگی‌های غیرطبیعی (نظیر تجمع نوتروفیلی با واسطه آنتی‌بادی، تجمع سلول‌های لنفومی و یا سلول‌های نئوپلاستیک پلاسماسلی) ۴- آگلوتینین‌های سرد قوی

ایمنی

- دستگاه به‌طور منظم و پس از استفاده روزانه شست‌وشو شود.
- در محیط اطراف دستگاه نبایستی ارتعاشی وجود داشته باشد.
- دستگاه باید دور از گرد و خاک قرار گیرد.
- در هنگام کار با دستگاه بایستی از دستکش یک‌بار مصرف استفاده شود.
- به منظور پیشگیری از اثرات نوسانات جریان الکتریکی لازم است که:

➢ دستگاه به سیستم تثبیت کننده ولتاژ برق (Voltage Regulator) یا سیستم تامین‌کننده برق اضطراری (UPS) که دارای تثبیت کننده ولتاژ داخلی می‌باشد، متصل گردد.

➢ سیستم برق دستگاه باید دارای سیم اتصال به زمین مناسب (ارت‌دار) باشد.

دستورالعمل فنی میکروهماتوکریت

کلیات

Packed Cell Volume (PCV) یا حجم سلول‌های متراکم شده، نسبت حجم گلبول‌های قرمز به حجم خون کامل است. این نسبت پس از سانتریفیوژ مناسب نمونه خون به‌دست می‌آید. روش مرجع اندازه‌گیری PCV استفاده از دستگاه میکروهماتوکریت می‌باشد که جهت کالیبراسیون سل کانترها نیز استفاده می‌گردد.

چگونگی کاربری

دو سوم تا سه چهارم طول لوله هماتوکریت از خون کامل که حداقل ۸ بار سروته شده است پر شده و با خمیر مخصوص مسدود می‌گردد. طول این خمیر نباید از ۴ میلی‌متر کمتر بوده و سطح آن نیز باید کاملا صاف باشد. دو لوله به طریق فوق از هر نمونه پرشده و روبروی هم در دستگاه میکروهماتوکریت قرار داده می‌شود و سپس دستگاه بر روی زمان لازم تنظیم می‌شود. نتیجه آزمایش باید حداکثر ۱۰ دقیقه پس از توقف دستگاه با استفاده از خط‌کش هماتوکریت قرائت شود. با گذشت زمان و باقی ماندن لوله‌ها به صورت افقی، حد فاصل پلاسما و سلول به تدریج شیب‌دار شده و خواندن نتیجه را با مشکل مواجه می‌سازد.

نحوه نگه‌داری

* زغال دستگاه باید هر ۳ ماه بازدید و هر ۶ ماه یک‌بار تعویض گردد.
* واشر دور حلقه محیطی دستگاه باید به‌گونه‌ای نگه‌داری شود که همیشه تمیز باشد.

مشخصات دستگاه

دستگاه میکروهماتوکریت باید دارای مشخصات زیر باشد:

۱- شعاع چرخش بیش‌تر از ۸ سانتی‌متر

۲- توانایی رسیدن به حداکثر سرعت در عرض ۳۰ ثانیه

۳- توانایی ایجاد RCF حدود ۱۵-۱۰ هزار g در محیط به مدت حداقل ۵ دقیقه بدون افزایش دما از ۴۵°C

۴- داشتن زمان‌سنج اتوماتیک (با قابلیت تنظیم حداقل ۳۰ ثانیه)

کنترل کیفی و بررسی کالیبراسیون

برای کنترل کیفی دستگاه توجه به موارد زیر ضروری است:

- سرعت سانتریفیوژ
- صحت زمان‌سنج دستگاه
- حداکثر توان در تجمع سلول‌ها

سرعت (برحسب دور در دقیقه) و زمان‌سنج سانتریفیوژ به ترتیب با تاکومتر کالیبره و کرونومتر قابل بررسی می‌باشند.

برای بررسی حداکثر توان تجمع سلولی می‌توان از روش زیر استفاده نمود:

دو نمونه خون تازه حاوی ضد انعقاد EDTA دی پتاسیم که به خوبی مخلوط شده‌اند را به‌صورت دوتایی به مدت دو دقیقه سانتریفیوژ کرده و مقادیر آن‌ها را ثبت می‌کنیم. سپس در هر مرحله ۳۰ ثـانیه زمان انجام سانتریفیوژ را افزایش داده تا زمانی که میزان دو هماتوکریت اندازه‌گیری شده پی‌درپی بدون تغییر بماند. این زمان به عنوان حداقل زمان لازم جهت متراکم نمودن گلبول‌های قرمز در نظر گرفته می‌شود. این آزمایش بهتر است حداقل با یک نمونه دارای هماتوکریت ۰/۵ (۵۰٪) یا بیش‌تر نیز انجام شود. در جدول ۲۳-۱ به طور نمونه مثالی ذکر گردیده است:

جدول ۲۳-۱ : محاسبه کمترین زمان تراکم گلبول‌های قرمز در دو نمونه متفاوت

زمان (بر حسب دقیقه)	حجم سلول‌های متراکم شده (PCV)	
	نمونه ۱	نمونه ۲
۲/۰	۰/۴۰	۰/۵۹
۲/۵	۰/۳۹	۰/۵۸
۳/۰	۰/۳۸	۰/۵۷
۳/۵	۰/۳۸ کم‌ترین زمان تراکم	۰/۵۶
۴/۰	-	۰/۵۵
۴/۵	-	۰/۵۵ کم‌ترین زمان تراکم

داده‌های موجود در جدول بالا نشان می‌دهد زمان لازم جهت متراکم نمودن گلبول‌های قرمز برای دستگاه میکروهماتوکریت مورد آزمایش، در نمونه‌ای با میزان هماتوکریت کمتر از ۰/۵، ۳/۵ دقیقه

و برای نمونه‌ای با مقدار هماتوکریت بیش‌تر از ۰/۵، ۴/۵ دقیقه می‌باشد. این امر پس از خرید و قبل از شروع به کار دستگاه و حداقل هر ۶ ماه باید انجام شود.

در صورتی که ارزیابی عملکرد دستگاه میکروهماتوکریت به‌صورت مستقیم امکان‌پذیر نباشد، می‌توان از روش توصیه شده سازمان بهداشت جهانی جهت بررسی توان دستگاه به روش زیر استفاده نمود:

چند نمونه خون با هماتوکریت کمتر از ۰/۵ و حاوی ضد انعقاد EDTA دی پتاسیم (۱/۵ میلی‌گرم برای هر میلی‌لیتر) را پس از بیست بار سرو ته کردن به صورت دوتایی به مدت ۳، ۵، ۷، ۹ و ۱۱ دقیقه سانتریفیوژ کرده و نتایج ثبت می‌گردد که در صورت مناسب بودن توان دستگاه (g) نتایج حاصله از دقیقه ۵ به بعد باید بدون تغییر باقی بماند.

در صورت وجود هر گونه اختلال در موارد ذکر شده در بالا، تماس با شرکت پشتیبان ضروری می‌باشد.

ایمنی

- به منظور پیشگیری از بروز نوسانات جریان الکتریکی، دستگاه باید به سیستم تثبیت کننده ولتاژ برق (Voltage Regulater) تجهیز شود.
- دستگاه باید در جای محکم قرار گیرد که ضربات وارده به پایه دستگاه در حال چرخش باعث خرابی دستگاه و هم‌چنین کم شدن دقت دستگاه نشود.
- در هنگام باز کردن درب سانتریفیوژ و برداشتن لوله باید مواظب بود زیرا لوله‌های شکسته به قطعات ریز تبدیل می‌شود که بعضا با چشم قابل دید نیست.
- در صورتی که عجله‌ای برای خوانش وجود ندارد بهتر است برای جلوگیری از ایجاد آئروسل، خوانش ۵ تا ۱۰ دقیقه بعد از اتمام کار سانتریفیوژ صورت گیرد.

دستورالعمل فنی سدیمان آنالایزر

کلیات

دستگاه سدیمان آنالایزر یک آنالایزر اتوماتیک می‌باشد که به‌وسیله میکروپروسسور کنترل می‌شود و به‌طور اختصاصی برای اندازه‌گیری سرعت رسوب گلبول‌های قرمز Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) به کار گرفته می‌شود.

این دستگاه به طور همزمان چندین نمونه خون را مورد ارزیابی قرار داده و میزان ESR را برای هر نمونه به طور مستقل از سایر نمونه‌ها اندازه‌گیری می‌کند.

زمان مورد نیاز برای انجام آزمایش سدیمان ساعت اول با این روش معمولا ۳۰ دقیقه می‌باشد.

در طراحی سدیمان آنالایزر حداکثر تلاش برای ساده کردن طراحی و استفاده آسان از آن صورت گرفته تا از ایجاد خطاهای انسانی در حین کاربری و نیز آلوده شدن کاربران جلوگیری شود.

به سبب این طراحی می‌توان از این دستگاه در قسمت نمونه‌گیری آزمایشگاه نیز استفاده کرد تا خطای ناشی از تاخیر در انجام آزمایش پس از نمونه‌گیری به حداقل ممکن کاهش یابد.

هم‌چنین در مدل‌های پیشرفته این دستگاه برای بالا بردن صحت نتایج و حذف خطای ناشی از تغییرات در درجه حرارت، به طور مداوم درجه حرارت محیط را اندازه‌گیری کرده و نتایج را نسبت به درجه حرارت مرجع ($۱۸^{\circ}C$) اصلاح می‌نماید.

اساس اندازه‌گیری دستگاه

اساس اندازه‌گیری سرعت رسوب گلبول‌های قرمز در دستگاه سدیمان آنالایزر بر مبنای سنجش سطح گلبول‌های قرمز در ابتدای آزمایش و سپس در بازه‌های زمانی معین بوسیله اشعه مادون قرمز می‌باشد.

پس از قرار گرفتن نمونه‌ها در دستگاه ابتدا یک بار سطح نمونه داخل لوله اندازه‌گیری می‌شود. و سپس طی ۳۰ دقیقه هر ۵ دقیقه یکبار مجددا سطح گلبول‌های قرمز داخل لوله سنجیده می‌شود و درصد رسوب گلبول‌ها نسبت به کل نمونه خون محاسبه می‌گردد.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری و محاسبات فوق با درصدهای رسوب در روش Westergren مقایسه و نتیجه نهایی براساس روش Westergren و پس از اصلاح براساس درجه حرارت مرجع نمایش داده می‌شوند.

روش اصلاح بر اساس دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد

همان‌طور که گفته شد سدیمان آنالایزر در حین انجام آزمایش به طور خودکار درجه حرارت محیط را اندازه‌گیری می‌کند و پس از انجام آزمایش با استفاده از داده‌های جدول ۲۴-۱ نتایج را بر مبنای درجه حرارت مرجع اصلاح می‌کند.

لازم به ذکر است در صورتی که درجه حرارت محیط کمتر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد و یا بیش از ۳۰ درجه سانتی‌گراد باشد، دستگاه ۱۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد را ملاک محاسبه قرار می‌دهد.

جدول ۲۴-۱: نحوه اصلاح نتایج آزمون براساس نسبت درجه حرارت محیط به دمای مرجع

۳۰°C	۲۵°C	۲۰°C	۱۸°C	۱۵°C	۱۸°C
۸	۶	۵	۵	۴	۵
۱۶	۱۲	۱۰	۱۰	۹	۱۰
۳۱	۲۵	۲۱	۲۰	۱۸	۲۰
۴۵	۳۷	۳۱	۳۰	۲۷	۳۰
۵۸	۴۹	۴۲	۴۰	۳۶	۴۰
۷۱	۶۰	۵۲	۵۰	۴۶	۵۰
۸۲	۷۱	۶۲	۶۰	۵۵	۶۰
۹۳	۸۲	۷۲	۷۰	۶۳	۷۰
۱۰۴	۹۳	۸۲	۸۰	۷۲	۸۰
۱۱۵	۱۰۳	۹۳	۹۰	۸۱	۹۰
۱۲۵	۱۱۴	۱۰۳	۱۰۰	۹۰	۱۰۰

محدودیت‌ها

- ***نمونه‌های شدیدا لیپمیک و یا همولیتیک برای انجام آزمایش دستگاهی سدیمان مناسب نیستند.***
- ***نمونه‌های با مقدار ESR بالای ۱۴۰mm/hr با علامت ۱۴۰< نشان داده می‌شوند.***
- ***درجه حرارت محیط باید بین ۳۰-۱۵ درجه سانتی‌گراد باشد، بنابراین در صورتی که درجه حرارت محیط خارج از این محدوده باشد، باعث اختلال در عملکرد دستگاه می‌شود.***

لوله‌های آزمایش

جهت راه‌اندازی سدیمان آنالایزر تعدادی لوله آزمایش مناسب به همراه دستگاه تحویل می‌گردد.
در صورت استفاده از لوله‌های غیرمنطبق با دستگاه نتایج قابل اعتماد نبوده و احتمال آسیب دیدن دستگاه وجود دارد.

قبل از استفاده از لوله‌ها، ۴ حجم خون و ۱ حجم سیترات سدیم ۳/۲٪ به لوله‌ها اضافه نمایید (بسیاری از لوله‌های موجود در بازار که برای اندازه‌گیری ESR به روش اتوماتیک طراحی شده‌اند، حاوی ضد انعقاد سیترات به میزان توصیه شده بوده و فقط باید تا خط طراحی شده روی لوله، درون آن‌ها خون ریخته شود).

در صورت تمایل می‌توان از لوله‌های خلاء، با شکل و میزان مکش متناسب با مشخصات مندرج در دستورالعمل فنی دستگاه استفاده نمود. لازم به ذکر است که در صورت استفاده از لوله متفرقه ممکن است تمامی نتایج به صورت نادرست گزارش شوند.

جمع‌آوری نمونه‌ها

بلافاصله پس از نمونه‌گیری باید مقدار مناسب خون به هر لوله آزمایش اضافه شود. هر لوله دارای مقداری سیترات سدیم است که میزان آن مطابق با دستورالعمل فنی دستگاه انتخاب می‌شود. ارتفاع نمونه و سیترات باید تا سطح مشخص شده باشد و پس از اضافه کردن خون تا ده بار با سر و ته کردن لوله مخلوط شود.

آماده‌سازی نمونه‌ها

بهتر است نمونه‌ها بلافاصله بعد از جمع‌آوری به دستگاه داده شوند. در صورت عدم امکان حتما قبل از وارد کردن لوله‌ها به دستگاه آن‌ها را به مدت ۵ دقیقه با سر و ته کردن مخلوط نمایید. سرعت مناسب برای مخلوط کردن ۱۲-۸ بار در دقیقه می‌باشد.

چگونگی کاربری

هر آزمایشگاه بایستی چگونگی کاربری دستگاه را براساس کتابچه آن تدوین نماید.

نحوه نگه‌داری

روزانه: ضد عفونی کردن بدنه دستگاه با اتانول ۷۰٪

هفتگی: تمیز نمودن رک مخصوص قرار گرفتن لوله‌های سدیمان با دستمال نرم و آب مقطر به طوری که بار کد روی آن پاک نشود.

ماهانه: تمیز نمودن صفحه رویی دستگاه با پارچه نرم و الکل اتانول ۷۰٪

سالانه: دستگاه سالی یکبار نیاز به سرویس توسط شرکت پشتیبان دارد.

کنترل کیفی

- **کنترل دقت**

الف) برای کنترل کیفی روزانه می‌توان از خون‌های کنترل تجاری (ترجیحا در ۲ سطح طبیعی و غیرطبیعی) و سپس رسم نمودار کنترلی بهره برد.

ب) در صورتی که خون کنترل تجاری در دسترس نباشد می‌توان هر روز از سه یا چهار خون دارای EDTA استفاده کرد (روز اول ۴ حجم از هر یک از این خون‌ها با ۱ حجم نرمال سالین یا سیترات سدیم رقیق شده و ESR آنها به روش دستگاهی چک می‌شود. باقیمانده خون دارای EDTA در یخچال نگه‌داری شده و مجددا روز بعد، پس از مخلوط کردن ۱ حجم ضد انعقاد (سیترات سدیم) یا نرمال سالین و ۴ حجم خون، ESR به روش دستگاهی اندازه‌گیری می‌شود، در صورتی که

مشکلی در روند کار دستگاه وجود نداشته باشد مقادیر خوانده شده در ۲ روز متوالی هم‌خوانی دارند (البته می‌توان با استفاده آزمون‌های آماری معنی‌دار بودن یا نبودن اختلاف آن‌ها بررسی شود).

ج) روش پیشنهادی WHO: در صورت دسترس نبودن خون کنترل تجاری، WHO روش جایگزین زیر را برای انجام کنترل کیفی پیشنهاد می‌کند:

یک نمونه خون را در دو ظرف حاوی EDTA جمع‌آوری نمایید. یک نمونه (نمونه A) را برای آزمایش معمولی، با سیترات سدیم (نسبت ۴ حجم خون به ۱ حجم سیترات) رقیق کرده و آزمایش را با روش رایج انجام دهید. در مورد نمونه دوم (نمونه B)، ابتدا HCT آنرا محاسبه کرده و با افزودن میزان مناسب از پلاسمای اتولوگ، HCT آنرا به ۳۳٪ برسانید. حجم پلاسمای لازم از فرمول زیر محاسبه می‌گردد:

حجمی از پلاسما که باید به ۵ سانتی‌متر مکعب خون اضافه گردد.= ۵- [۰/۳۳ / ۵ × HCT نمونه]

سپس نمونه B را به روش رفرانس وسترگرن آزمایش کرده و ESR آنرا به دلیل رقیق نشدن با سیترات اصلاح نمایید:

۱۲- (۰/۸۶× ESR نمونه رقیق نشده)=ESR تصحیح شده

در ESRهای زیر ۶۰ (نمونه B) تفاوت تا میزان ۱۲ و در ESRهای بالای ۶۰ تفاوت تا میزان ۲۰ بین نمونه‌های A و B مجاز بوده و نشانه قابل قبول بودن نتایج روش رایج است.

د) در مراکزی که روزانه بیش از ۱۰۰ نمونه ESR اندازه‌گیری می‌شود می‌توان از میانگین تجمعی روزانه (Daily Cumulative Mean) برای کنترل کیفی استفاده کرد و CV<۱۵٪ بین میانگین‌های روزانه، به‌عنوان معیار رضایتمندی از عملکرد دستگاه محسوب می‌گردد.

هـ) ماهیانه با دادن یک نمونه حداقل ۱۰ بار به دستگاه، CV دستگاه را محاسبه نمایید که باید معادل CV پیشنهادی شرکت سازنده باشد.

- **کنترل صحت**

الف) شرکت در آزمون‌های کنترل کیفی خارجی

ب) استفاده از چک تیوب‌های مخصوص دستگاه (ESR Check Tube)

چک تیوب عبارت است از لوله‌های سدیمان با عددی ثابت که روی هر یک جداگانه درج شده است. به دلیل اختصاصی بودن چک تیوب باید آن را از سازنده دستگاه در خواست و تهیه نمود.

➢ **روش انجام کار در کنترل صحت (چک تیوب)**

به عنوان نمونه مراحل روش کار با چک تیوب برای دستگاه سدیمان ریدر مدل Dragon Med 2010 6010 به شرح زیر بیان می‌شود:

۱- اتصال برق دستگاه و پرینتر و اتصالات بین آن‌ها را به درستی برقرار سازید.
۲- دستگاه را روشن و به دمای اتاق برسانید (حداقل نیم ساعت قبل از شروع کار دستگاه را روشن نمایید).
۳- دمای اتاق آزمایش را که روی صفحه نمایش دستگاه ظاهر می‌گردد یادداشت نمایید.
۴- دقت نمایید که صفحه نمایش برای تمامی کانال‌ها علامت ..... را نشان می‌دهد.
۵- چک تیوب‌هایی با مقادیر صفر را در تمام کانال‌ها قرار دهید (دقت نمایید که عمل قرار دادن چک تیوب‌ها برای تمام کانال‌ها باید کمتر از یک دقیقه به اتمام برسد).
۶- دقت نمایید که صفحه نمایش برای تمامی کانال‌ها علامت RUN را نشان دهد.
۷- صبر نمایید تا اسکن اولیه یا قرائت تیوب‌ها توسط دستگاه انجام پذیرد (این کار توسط دستگاه با یک آلارم همراه قابل تشخیص است).
۸- پس از اتمام اولین قرائت یا اسکن باید چک تیوب‌های مقادیر صفر را یکی یکی از دستگاه خارج و در کمتر از ۱۰ ثانیه هر یک را با چک تیوبی غیر از مقدار صفر جایگزین نمایید.
این کار را باید برای هر کانال جداگانه انجام داده و دقت نمایید که حداکثر زمان جایگزینی برای چک تیوب هر کانال ۱۵ ثانیه می‌باشد.
۹- پس از ۳۰ دقیقه نتایج حاصل روی صفحه نمایش دستگاه ظاهر و توسط پرینتر چاپ می‌گردند.
۱۰- نتایج به‌دست آمده را با جدول ضمیمه چک تیوب‌ها برای دمای آزمایش یادداشت شده در بند ۳ مقایسه نمایید.

- **صحه گذاری متد**

زمانی که از ESR به روش دستگاهی به عنوان یک روش جدید در آزمایشگاه استفاده می‌شود باید Method evaluation به شیوه زیر انجام گردد.

از ۶۰ بیمار ۲ سری خون (مخلوط با EDTA و نیز مخلوط با سیترات به نسبت ۴ به ۱) تهیه کرده و نمونه EDTA را با متد استاندارد Westergren و خون سیتراته را با متد دستگاهی مورد آزمایش قرار دهید. بهتر است این بیماران طیف وسیعی از ESR (از ۱۵ تا ۱۰۵) داشته باشند. در صورتی که حداقل ۹۵٪ جواب‌ها مطابق جدول ۲۵-۱، همخوانی داشته باشند، روش جدید رضایت‌بخش است.

در چاپ جدید کتاب Dacie (۲۰۱۲) بدون استفاده از جدول مذکور ذکر شده است که در صورتی‌که ۹۵٪ جواب‌های حاصل از دو روش بیش از ۵٪ با یکدیگر اختلاف نداشته باشند روش جدید رضایت‌بخش است.

جدول ۲۵-۱: مقادیر سدیمانتاسیون گلبول قرمز برای صحه گذاری روش مورد استفاده در آزمایشگاه با مقادیر استاندارد اعلام شده توسط گروه استاندارد سازی روش‌ها در هماتولوژی

محدوده روش مورد استفاده در آزمایشگاه[ب]	روش استاندارد[الف]	محدوده روش مورد استفاده در آزمایشگاه[ب]	روش استاندارد[الف]	محدوده روش مورد استفاده در آزمایشگاه[ب]	روش استاندارد[الف]
۴۰-۶۸	۷۵	۱۸-۳۷	۴۵	۳-۱۳	۱۵
۴۰-۶۹	۷۶	۱۸-۳۸	۴۶	۴-۱۴	۱۶
۴۱-۷۰	۷۷	۱۹-۳۸	۴۷	۴-۱۵	۱۷
۴۲-۷۱	۷۸	۲۰-۳۹	۴۸	۴-۱۵	۱۸
۴۳-۷۲	۷۹	۲۰-۴۰	۴۹	۵-۱۶	۱۹
۴۴-۷۳	۸۰	۲۱-۴۱	۵۰	۵-۱۷	۲۰
۴۵-۷۴	۸۱	۲۲-۴۲	۵۱	۶-۱۷	۲۱
۴۵-۷۶	۸۲	۲۲-۴۳	۵۲	۶-۱۸	۲۲
۴۶-۷۷	۸۳	۲۳-۴۴	۵۳	۶-۱۹	۲۳
۴۷-۷۸	۸۴	۲۴-۴۵	۵۴	۷-۱۹	۲۴
۴۸-۷۹	۸۵	۲۴-۴۶	۵۵	۷-۲۰	۲۵
۴۹-۸۰	۸۶	۲۵-۴۷	۵۶	۸-۲۱	۲۶
۵۰-۸۲	۸۷	۲۶-۴۸	۵۷	۸-۲۱	۲۷
۵۱-۸۳	۸۸	۲۶-۴۹	۵۸	۹-۲۲	۲۸
۵۲-۸۴	۸۹	۲۷-۵۰	۵۹	۹-۲۳	۲۹
۵۳-۸۵	۹۰	۲۸-۵۱	۶۰	۱۰-۲۴	۳۰
۵۳-۸۶	۹۱	۲۹-۵۲	۶۱	۱۰-۲۵	۳۱
۵۴-۸۸	۹۲	۲۹-۵۳	۶۲	۱۱-۲۵	۳۲
۵۵-۸۹	۹۳	۳۰-۵۴	۶۳	۱۱-۲۶	۳۳
۵۶-۹۰	۹۴	۳۱-۵۶	۶۴	۱۲-۲۷	۳۴
۵۷-۹۱	۹۵	۳۲-۵۷	۶۵	۱۲-۲۸	۳۵
۵۸-۹۳	۹۶	۳۲-۵۸	۶۶	۱۳-۲۹	۳۶
۵۹-۹۴	۹۷	۳۳-۵۹	۶۷	۱۳-۳۰	۳۷
۶۰-۹۵	۹۸	۳۴-۶۰	۶۸	۱۴-۳۰	۳۸
۶۱-۹۶	۹۹	۳۵-۶۱	۶۹	۱۴-۳۱	۳۹
۶۲-۹۸	۱۰۰	۳۵-۶۲	۷۰	۱۵-۳۲	۴۰
۶۳-۹۹	۱۰۱	۳۶-۶۳	۷۱	۱۵-۳۳	۴۱
۶۴-۱۰۰	۱۰۲	۳۷-۶۴	۷۲	۱۶-۳۴	۴۲
۶۵-۱۰۱	۱۰۳	۳۸-۶۵	۷۳	۱۷-۳۵	۴۳
۶۶-۱۰۳	۱۰۴	۳۹-۶۶	۷۴	۱۷-۳۶	۴۴
۶۷-۱۰۴					

الف) روش استاندارد: خون رقیق نشده با هماتوکریت ۰/۳۵ یا کمتر با ضد انعقاد EDTA
ب) روش کاری در آزمایشگاه: چهار حجم خون با EDTA همراه با یک حجم سیترات یا خون EDTA بدون رقیق کننده در صورتی که ۹۵٪ نتایج در محدوده تعیین شده باشد، روش کاری مورد استفاده در آزمایشگاه مورد تایید است. برگرفته از Journal of Clinical Pathology

منبع: Dacie 2006 ، Nccls 2000

نکات مهم در کنترل کیفی و نگه‌داری

- دمای اتاق آزمایش باید بین ۱۶ الی ۳۱ درجه سانتی‌گراد باشد.
- اتاق آزمایش باید دارای دمای ثابت و بدون هرگونه نوسان دمایی مثلا به دلیل وزش باد باشد.
- دستگاه سدیمان آنالایزر باید در یک سطح کاملا مسطح و افقی و در محیط بدون گرد و غبار و رطوبت بالا قرار گیرد.
- چک تیوب‌ها را در حین قرائت از دستگاه خارج نسازید.
- دستگاه سدیمان ریدر در حین کار باید به یک منبع برق با ولتاژ ثابت متصل باشد.
- دستگاه سدیمان نباید در مجاورت یک وسیله مرتعش مانند سانتریفیوژ قرار گیرد.
- نمونه‌ها نباید در معرض مستقیم نور خورشید قرار گیرند.

نکات مهم در جهت افزایش دقت و صحت

- نسبت حجم نمونه به سیترات (نسبت ۴ به ۱) کاملا رعایت گردد.
- قبل از قرار دادن لوله در دستگاه آن را به مدت ۵ الی ۱۰ دقیقه بصورت الاکلنگی (سرو ته کردن) مخلوط نمایید، سپس لوله را به‌طور عمودی در دستگاه قرار داده به نحوی که انتهای لوله در کف هولدر آن قرار گیرد (در صورتی که لوله بطور کج در کانال قرار گیرد احتمال شکستن آن وجود دارد).
- برچسب مشخصات بیمار را تا حد ممکن در بالای لوله بچسبانید (در صورتی که بر چسب مشخصات بیمار روی قسمت خوانش دستگاه را بپوشاند نتایج غیرصحیح حاصل خواهد شد).
- طی زمان قرائت از دست زدن و یا جابجایی لوله اکیدا خودداری فرمایید.
- در صورت وجود مشکل در میزان ترکیب خون با سیترات و یا نحوه قرار گرفتن لوله در کانال برای آن نمونه پیغام خطا یا Error نشان داده خواهد شد.
- دمای محیط کار دستگاه باید بین ۲۰ الی ۳۰ درجه سانتی‌گراد باشد.
- در حین قرائت لوله‌ها، دستگاه در فواصل معینی سوت زده و شروع به کار می‌نماید. در این زمان تا پایان حرکت موتور هیچ‌گونه لوله‌ای را در دستگاه قرار نداده و یا برندارید.
- پس از اتمام کار ابتدا دستگاه را خاموش نموده و سپس پرینتر آن را خاموش نمایید.

رفع اشکالات

اشکالات کار با دستگاه، علت ایجاد آن و نحوه رفع آن‌ها در جدول ۲۶-۱ بیان شده است.

جدول ۲۶-۱: اشکالات کار در سدیمان آنالایزر و نحوه رفع آن‌ها

نوع اشکال	علت ایجاد خرابی	رفع اشکال
ERL خطا در شناسایی لوله	۱) سطح نمونه در لوله پایین می‌باشد. ۲) بر چسب در جای صحیح قرار ندارد.	۱) نمونه‌گیری مجدد انجام شود. ۲) بر چسب را در جای صحیح قرار داده و آزمایش را تکرار نمایید.
ERS	نمونه قبل از پایان آزمایش برداشته شده است.	آزمایش را تکرار کنید.
Temp. Err.	"خطای درجه حرارت" به دلیل اشکال در حسگر دما	نتایج نسبت به درجه حرارت مرجع اصلاح نمی‌شوند. با بخش خدمات پس از فروش تماس بگیرید.
MECHANICAL ERROR	اشکال در حرکت موتور	با بخش خدمات پس از فروش تماس بگیرید.
نتایج چاپ نمی‌شوند.	۱) اشکال در برق چاپگر ۲) اشکال در کابل چاپگر ۳) اشکال در تنظیمات چاپگر	۱) منبع تغذیه چاپگر را کنترل کنید. ۲) کابل چاپگر را کنترل کنید. ۳) با فشار دادن همزمان هر دو کلید و روشن کردن آن عملکرد چاپگر را کنترل کنید. ۴) تنظیمات چاپگر را کنترل کنید. ۵) چاپگر را تعویض نمایید.
نتایج آزمایش‌ها دقیق نیست	۱) لخته شدن نمونه ۲) روی نمونه کف وجود دارد. ۳) آزمایش بیش از ۴ ساعت بعد از نمونه‌گیری انجام شده است. ۴) مخلوط کردن نمونه به درستی انجام نشده است.	۱) نمونه‌گیری را تکرار کنید. ۲) نمونه را مجدداً مخلوط نمایید.
بدون وجود لوله در کانال علامت RUN نمایش داده می‌شود.	۱) روی حسگر مادون قرمز بوسیله مواد زائد پوشانده شده است. ۲) کابل داخلی دستگاه قطع شده است.	۱) با بخش خدمات پس از فروش تماس بگیرید. ۲) با بخش خدمات پس فروش تماس بگیرید.
اطلاعات روی صفحه نمایش داده نمی‌شوند.	۱) دستگاه خاموش است. ۲) منبع برق به درستی کار نمی‌کند. ۳) برد اصلی یا برد صفحه نمایش دستگاه خراب است.	۱) دستگاه را روشن کنید. ۲) منبع برق را کنترل و در صورت لزوم تعویض نمایید. ۳) با بخش خدمات پس از فروش تماس بگیرید.

کالیبراسیون

وقتی که نتایج آزمایش‌ها براساس عملیات کنترل کیفی از دقت و صحت لازم برخوردار نباشد بایستی دستگاه جهت کالیبراسیون به شرکت پشتیبان ارسال گردد.
علاوه بر آن دستگاه سالی یکبار نیاز به کالیبراسیون عمومی توسط شرکت را دارد.

ایمنی

- برق دستگاه نوسان نداشته باشد و دارای سیم اتصال به زمین باشد.
- استفاده از دستکش یکبار مصرف در هنگام کار با دستگاه الزامی است.
- دستگاه سدیمان آنالایزر بایستی روی سطح صاف و بدون شیب قرار گیرد.
- از قرار دادن دستگاه در کنار دستگاه‌هایی که ایجاد لرزش می‌کنند مثل سانتریفیوژ، روتاتور و شیکر خودداری شود.

دستورالعمل فنی کوآگولومتر (نیمه اتوماتیک)

کلیات

دستگاه‌های کوآگولومتر، آزمایش‌های انعقادی مختلفی از جملهPT وPTT و فیبرینوژن و ... را اندازه‌گیری می‌نمایند. این دستگاه‌ها جهت بررسی زمان تشکیل لخته در نمونه پلاسما طراحی شده‌اند و غالباً برای محاسبه این زمان از مکانیزم‌های زیر استفاده می‌گردد:

۱- Photo-Optical: در این روش نور منتشره پس از عبور از پلاسما و برخورد به لخته، بوسیله یک کالیماتور، ردیابی و داده‌ها پردازش می‌گردند.

۲- Electromechanical: در این نوع دستگاه‌ها با استفاده از گویچه استیل و بررسی مقاومت الکتریکی، سرعت تشکیل لخته چک می‌شود.

۳- Electrochemical: در برخی وسایل Point of Care استفاده می‌شود.

چگونگی کاربری

با توجه به تنوع دستگاه بر اساس کتابچه راهنما تدوین می‌شود.

نحوه نگه‌داری

* **هفتگی:** صفحه‌رویی دستگاه با پارچه نرم و الکل ۷۰٪ ضدعفونی و تمیز گردد.
* **ماهانه:** محفظه‌های دستگاه باید هر ماه تمیز شوند.
* **سالانه:** دستگاه باید سالی یک‌بار توسط شرکت پشتیبان سرویس شود. دمای انکوباتور دستگاه سالانه توسط شرکت پشتیبان چک شده و گواهی کالیبراسیون جهت نگه‌داری در Log Book دستگاه به آزمایشگاه داده شود.

نحوه گزارش آزمون انعقادی Prothrombin Time (PT)

در گزارش آزمایش PT علاوه بر مقدار زمان PT برحسب ثانیه، باید Inrernational Normalized Ratio (INR) به ویژه برای بیمارانی که تحت درمان با وارفارین می‌باشند نیز گزارش شده و در برابر محدوده مرجع به پزشک اعلام گردد. جهت محاسبه INR نیاز به محاسبه میانگین PT نرمال (MNPT) می‌باشد که در ادامه نحوه محاسبه آن‌ها بیان می‌شود.

- **محاسبه میانگین PT نرمال (MNPT : Mean Normal PT)**

با توجه به این‌که برای محاسبه INR (مطابق فرمول مندرج در صفحه بعد) نیاز به تعیین میانگین هندسی (Geometric) زمان پروترومبین یا MNPT می‌باشد، هر آزمایشگاه باید با توجه به ترکیب

کیت / دستگاه خود MNPT مرکز را به صورت زیر محاسبه و در گزارش نهایی INR مورد استفاده قرار دهد.

در ابتدا پلاسمای حداقل ۲۰ فرد سالم با طیف سنی وسیع (۸۰-۲۰ سال)، (بهتر است تعداد زن و مرد مساوی باشد، افراد غیرسیگاری بوده و داروی ضد انعقاد مصرف نکرده باشند، زنان باردار نبوده و ocp مصرف نکرده باشند) تهیه می‌شود و PT آن‌ها را توسط کوآگولومتر کالیبره شده مرکز، اندازه‌گیری نمود. میانگین Geometric (هندسی) نتایج حاصله به عنوان میانگین نرمال (PT) به صورت زیر محاسبه می‌شود:

$$\text{mean normal (PT)} = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^{n} \text{PTi}} = \sqrt[n]{PT1 \times PT2 \times PT3 \times \ldots}$$

یا

$$\log mean\ \text{normal}(PT) = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} logPTi = \frac{1}{n}(\log \text{PT1} + logPT2 + \cdots$$

محاسبه MNPT توسط ماشین حساب رایانه به سادگی میسر می‌باشد. در منوی start گزینه calculator را انتخاب کرده و در منوی view گزینه scientific را انتخاب کنید. سپس ارقام PT حاصل از ۲۰ نمونه را در هم ضرب کرده و بر روی صفحه کلید ماشین حساب کلید $X^{\wedge}Y$ را فشرده و پس از آن عدد ۰/۰۵ (ماحصل ۱/۲۰ و در صورتی‌که تعداد نمونه (n) ۲۰ نباشد، ماحصل 1/n را به صورت رقم اعشار) را تایپ کرده و کلید enter را فشرده و عدد حاصله را گرد کرده و به عنوان MNPT گزارش کنید.

با تغییر روش اندازه‌گیری PT ، سری ساخت محلول یا کیت و دستگاه، MNPT باید مجدد محاسبه شود. لازم به ذکر است که به هیچ عنوان نباید از میانگین حسابی در این آزمون استفاده کرد.

- **نحوه محاسبه INR**

INR براساس فرمول $\text{INR}=\left(\frac{PT\ patient}{MNPT}\right)^{\text{ISI}}$ محاسبه می‌شود.

در محاسبه INR بیماران می‌بایستی تا زمانی که سری کیت مصرفی، کمپانی سازنده و سری ساخت آن و یا روش انجام تست (دستی – دستگاهی) تغییر نکرده، در مخرج کسر از عدد ثابت محاسبه شده MNPT در آن آزمایشگاه استفاده نمایید.

در صورت تعویض کیت (سری ساخت، کمپانی و ...) و یا روش آزمایش می‌بایستی مجددا MNPT محاسبه گردد تا جهت محاسبه INR با کیت جدید مورد استفاده قرار گیرد.

جهت محاسبه INR از قراردادن عدد کنترل روزانه در مخرج کسر جدا خودداری شود.

- **محدوده مرجع**

هر آزمایشگاه بایستی محدوده مرجع برای آزمایش‌های PT و PTT خود را تعیین کرده و آن‌ها را حداقل یکبار در سال و یا در صورت تغییر در سری ساخت کیت و یا هرگونه تغییر در سامانه جمع آوری نمونه و هر نوع تغییر در دستگاه تایید نماید.

➢ **تعیین محدوده مرجع**

حداقل ۱۲۰ نمونه برای تعیین محدوده مرجع برای معتبر بودن محاسبات، بسته به توزیع نتایج توصیه می‌شود. خصوصا این مسئله در زمانی که کارخانه‌ها معرف‌های PTT/PT را با متد جدیدی تولید می‌کنند مهم است.

در انجام تست روتین PT و PTT در هر آزمایشگاه به‌طور عملیاتی می‌توان حداقل از نمونه تازه ۱۲۰ فردی که از نظر سن و جنس مشابه بیماران آن مرکز می‌باشند استفاده کرد. این افراد می‌بایستی سالم باشند و در ۱۸ تا ۲۴ ساعت اخیر دارو مصرف نکرده و ورزش شدید انجام نداده باشند. ابتدا برای حداقل ۱۲۰ فرد سالم با شرایط فوق‌الذکر، توسط کیت مربوطه، آزمایش PT انجام شود. برای اینکه از نرمال بودن توزیع این نمونه‌ها اطمینان حاصل شود، مقادیر به دست آمده در نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرد.

(ازمسیر Analyze > Nonparametric > one Sample ks)

چنانچه توزیع مقادیر فوق نرمال باشد، محدوده مرجع معادل MNPT±2SD می باشد. در صورت نیاز، محدوده ۹۵٪ اطمینان حد بالا و پایین (Confidence Intervral) از رابطه زیر محاسبه می‌شود:

- محدوده حد بالا $= \mathrm{MNPT} + 2\mathrm{SD} \pm (2.81 \times \frac{SD}{\sqrt{n}})$
- محدوده حد پایین $= \mathrm{MNPT} - 2\mathrm{SD} \pm (2.81 \times \frac{SD}{\sqrt{n}})$

برای مطالعه بیشتر به مبحث تعیین محدوده مرجع در منابع معتبر از جمله CLSI 2008–H47-A2 و ... مراجعه شود.

➢ **تایید محدوده مرجع**

در صورتیکه تعیین محدود مرجع انجام پذیر نباشد آزمایشگاه باید محدوده نرمال مورد استفاده خود را (که از کتب مرجع استخراج نموده)، تایید (validate) نماید و این کار با انجام آزمایش به روی نمونه ۲۰ فرد نرمال انجام می‌گردد. چنانچه بیش از ۲ نتیجه خارج از محدود رفرانس نباشد، آن محدوده مورد تایید است.

کنترل کیفی

۱)کنترل دقت

شامل انجام تست به صورت double به روی هر نمونه (در صورتی که آزمایش به روش دستی انجام می‌گردد) بررسی تکرارپذیری و رسم نمودار کنترل کیفی می‌باشد.

انجام آزمایش به صورت دوبل

آزمایش‌هـای انعقادی به صورت دوگانه انجام می‌شوند که این امر در روش دستی ضروری است ولی در روش‌های دستگـاهـی ضرورتی بـرای ایـن کـه همه تست‌ها به صورت دوتایی انجام شوند وجود ندارد و تمام نمونه‌ها به صورت دوبل (دوتایی) آزمایش شده و چنانچه حداکثر به اندازه ۱۰ درصد میانگین با هم فاصله داشته باشند قابل قبول بوده و میانگین آنها به عنوان نتیجه آزمایش گزارش می‌گردد و در غیر این صورت تکرار آزمایش ضروری می‌باشد.

محاسبه SD و رسم نمودار کنترل کیفی

برای محاسبه SD و CV ، می‌بایست پلاسما کنترل تجاری در دو سطح و یا در صورت در دسترس نبودن پلاسما کنترل تجاری، این آزمایش با اسـتفاده از(Normal Pooled Plasma (NPP و Abnormal Pooled Plasma (ANPP) انجام‌پذیر می‌باشد.

برای تهیه پلاسمای پولد در حجم انبوه به شیوه زیر عمل می‌گردد:

حداقل ۲۰ نمونه نرمال (پلاسمای مرد و زن با شرایط مناسب از جمله زنان غیربارداردار و افراد بدون مشکل انعقادی و غیرسیگاری) را جمع‌آوری کرده و پس از سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه و ۴۰۰۰g) پلاسمای آن‌ها جدا گردده و در لوله پلاستیکی ریخته شود پس این پلاسماها در فریزر °C ۷۰- منجمد شده و زمانی که میزان آن‌ها به حجم مورد نظر رسیده همگی آن‌ها را در دمای °C ۳۷ ذوب کرده و مخلوط نموده و مجددا سانتریفیوژ نمایید. سپس در مقادیر کم تقسیم نموده و در فریزر °C۷۰- نگه‌داری کنید. برای به دست آوردن پلاسمای پولد غیرطبیعی می‌توان پلاسمای پولد نرمال را به نسبت ۱ به ۳ با بافر فسفات سالین (pH=۷/۲) رقیق نمود.

این نمونه‌ها را می‌توان دردمای °C ۲۰- به مدت ۲ هفته یا در °C ۷۰- به مدت ۶ ماه ذخیره نمود.

برای تعیین تکرارپذیری با پلاسما کنترل، ۲۰ روز متوالی یا ۵ روز متوالی (هر روز ۴ نوبت) آزمایش PT را انجام داده و سپس میانگین و CV را محاسبه کنید. حداکثرCV قابل قبول ۵ درصد یا بر اساس مقدار اعلام شده در کیت می‌باشد.

پس از محاسبه میانگین و انحراف معیار، مقادیر ±1SD، ±2SD و ±3SD برای هر پارامتر بر روی محور عمودی و روزها بر روی محور افقی ثبت می‌گردد. تفسیر نمودار کنترل کیفیت با استفاده از قوانین وستگارد، لوی جنینگ و یا سازمان بهداشت جهانی بر اساس طراحی کنترل کیفی در

آزمایشگاه صورت می‌گیرد. لازم به ذکر است که در آزمایشگاه‌هایی که تعداد نمونه‌های روزانه آن‌ها زیاد است، بایستی به ازای هر ۲۰ نمونه یا هر ۴۰ نمونه، یک نمونه کنترل، آزمایش شود و به طور روزانه و به ازای هر داده این تفسیر صورت پذیرد. ضمنا پیشنهاد می‌شود تا مواد، کالیبراتورها و سایر معرف‌ها برای دستیابی به نتایج صحیح‌تر، حداقل برای شش ماه تهیه شود.

برای بررسی تکرارپذیری دستگاه، در پایان هر ماه می‌توان با استفاده از داده‌های نمونه کنترل روزانه، میانگین، SD و CV را محاسبه نموده و یا ماهانه نمونه پلاسما کنترل یا pooled plasma را حداقل ۱۰ بار آزمایش و CV را مشخص نمود.

۲) اندازه‌گیری پلاکت پلاسما

هر ۶ ماه یک‌بار برای اطمینان از poor platelet بودن پلاسمای نمونه‌ها، میزان پلاکت پلاسمای نمونه سانتریفیوژ شده (با ۱۵۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه) اندازه‌گیری می‌شود که باید کمتر از ۱۰۰۰۰ در میکرولیتر باشد.

تهیه صحیح Platelet Poor Plasma (PPP) به ویژه برای آزمون‌های mixed PTT ، APC-R ، Lupus Anticoagulant و تست‌های تخصصی انعقادی اهمیت دارد.

لازم به ذکر است که در مواردی که نیاز به فریز کردن و ذخیره نمونه است باید پلاسما عاری از پلاکت باشد که این حالت با سانتریفیوژ کردن مجدد نمونه حاصل می‌گردد.

۳) بررسی صحت

بررسی صحت شامل موارد زیر می‌باشد:

الف) استفاده از پلاسما کنترل تجاری

استفاده از پلاسما کنترل تجاری در دو سطح که توسط کالیبراتور صحه‌گذاری گردیده است، یکی از روش‌های قابل اعتماد بررسی صحت در آزمون‌های انعقادی است که متاسفانه در ایران با توجه به تنوع دستگاه‌ها، به طور گسترده در دسترس تمامی آزمایشگاه قرار ندارد. به همین دلیل روش دوم پیشنهاد می‌شود.

ب) شرکت در برنامه کنترل کیفی خارجی

هم‌چنین برای بررسی صحت می‌توان در برنامه‌های کنترل کیفی خارجی شرکت نمود و بر اساس نتایج به صحت عملکرد پی‌برد.

برای توضیح بیشتر در این خصوص به مبحث بررسی صحت دستورالعمل فنی دستگاه شمارنده خودکار سلول‌های خونی مراجعه شود.

ج) صحت ISI تعیین شده توسط تولید کننده کیت

مقدار ISI گزارش شده در کیت تولیدی توسط شرکت با استفاده از روش استاندارد WHO و با مقایسه نتایج PT حاصل از کیت با International Reference Preparation (IRP) به‌دست می‌آید. در این روش تعیین ISI منابعی بالقوه از خطا وجود دارد که می‌تواند تاثیر قابل توجهی در نتایج به‌دست آمده از کیت بگذارد. از این منابع خطا می‌توان به‌طور مثال از مواردی مانند شرایط محیطی، عملکرد هر دستگاه به‌عنوان یک فاکتور مستقل و یا تطابق دستگاه و مواد مورد استفاده برای انجام تست (تعلق هر دو به یک شرکت) را نام برد.

گاه مجموعه‌ای از این خطاها می‌تواند تفاوت چشمگیری را بین INR حقیقی ایجاد نماید. این‌گونه خطاها باید توسط هر آزمایشگاه به حداقل برسد.

ISI ارایه شده توسط شرکت گاه اصطلاحا «ژنریک» بوده و برای دستگاه خاصی ارایه نگردیده و کلا برای روش‌های مشابه مثل End point قابل استفاده می‌باشد. در حالت دوم ISI ارایه شده اصطلاحا "Instrument-Specific" می‌باشد، یعنی صرفا برای مجموعه خاص "Reagent-Instrument" تعیین شده است. در مطالعات متعددی نشان داده شده که صحت ISI گزارش شده در مواردی که از ISI مختص به دستگاه استفاده می‌شود به مراتب بیش‌تر از زمانی است که از ISI ژنریک استفاده می‌شود. طیف این تفاوت بین INRهای گزارش شده با این دو شرایط مختلف می‌تواند بین ۱۵ تا ۳۰ درصد باشد که کاملا به لحاظ بالینی دارای اهمیت است. با توجه به توضیحات فوق ISI ارایه شده توسط شرکت حتما باید مجددا تعیین و تایید گردد، علی‌الخصوص اگر آزمایشگاهی از ISI ژنریک استفاده می‌کند و یا دستگاه و مواد اولیه مورد استفاده با یکدیگر تطابق نداشته باشند، این کار باید حتما انجام شود.

در مرحله اول ابتدا باید ISI verification انجام گیرد که مراحل آن به‌طور خلاصه چنین است: این فرآیند به سه نمونه Certified plasma نیاز دارد که استاندارد بوده و توسط FDA تایید گردیده و عدد INR آنها از قبل مشخص و بین INR ۱/۵ تا ۴/۵ قرار دارد. این پلاسماها کاملا مشابه نمونه‌های بیماران تحت آزمایش قرار می‌گیرند. PT و INR برای هر پلاسما به مدت ۳ روز و هر روز ۲ بار انجام می‌شود. پس از تعیین میانگین INR بدست آمده از تست‌های صورت گرفته، نتیجه آن با INR تعیین شده از طرف شرکت مقایسه می‌گردد و اگر اختلاف INRها کمتر از ۱۵٪ بود، کیت و ISI تعیین شده و مورد استفاده آن قابل قبول است. اگر اختلاف INR بیش از ۱۵٪ باشد، آنگاه کالیبراسیون ISI و تعیین آن به صورت لوکال ضروری می‌باشد، یعنی قبل از این که نتایج بیماران گزارش گردد باید فرآیند کالیبراسیون انجام شده باشد. قبل از انجام کالیبراسیون لوکال ISI، آزمایشگاه باید مطمئن باشد که:

۱) دستگاه به نحو مطلوب کار می‌کند.

۲) آماده‌سازی معرف‌ها (Reagents) و آب کردن آن‌ها صحیح انجام شده باشد.
۳) میانگین هندسی PT افراد طبیعی به صورت صحیح محاسبه شده باشد.
۴) اشتباه فردی و دفتری در ثبت اعداد اتفاق نیفتاده باشد.

اگر آزمایشگاه از همه موارد فوق مطمئن باشد، می‌تواند کالیبراسیون ISI را انجام دهد. برای انجام کالیبراسیون باید از کیت کالیبراسیون استفاده نمود که به صورت تجاری تهیه شده و دارای تاییدیه FDA می‌باشد. تعداد Certified plasma بسته به شرایط مختلف متفاوت بوده ولی حداقل در ۴ سطح مختلف می‌باشد که هر کدام از پلاسماها عدد PT مشخص و تعریف شده‌ای دارد. مانند حالت و فرآیند قبلی PT هر پلاسما سه روز و هر روز دو بار تکرار می‌گردد و میانگین آن مشخص می‌شود. CV این اعداد به دست آمده باید کمتر از ۳٪ باشد. اعداد به دست آمده به روش فوق همراه با اعداد PT از قبل assign شده بر روی یک منحنی در مقابل هم قرار می‌گیرد و به لحاظ آماری orthogonal regression line برای آن‌ها محاسبه می‌گردد.

Slope به‌دست آمده برای این خط همان ISI لوکال صحیح است که باید برای دستگاه استفاده شود.

کالیبراسیون

در صورتی که نتایج کنترل کیفی مورد قبول نباشد (پس از خطایابی مشکل در دستگاه باشد) بایستی کالیبراسیون دستگاه انجام گیرد. هم‌چنین در مواردی که تغییر سری ساخت کیت، سایر اجزاء فیزیکی و یا تغییر روش باعث تغییر در صحت نتایج آزمایش‌ها شود انجام یا تایید کالیبراسیون ضروری است.

ایمنی

- فقط از آداپتور مخصوص خود دستگاه استفاده شود.
- دستگاه باید در جای محکم و بدون ارتعاش باشد.
- در هنگام عدم استفاده از دستگاه باید آداپتور از برق خارج شود.
- به منظور پیشگیری از اثرات نوسانات جریان الکتریکی لازم است که:

➢ دستگاه به سیستم تثبیت کننده ولتاژ برق (Voltage Regulator) یا سیستم تامین کننده برق اضطراری (UPS) که دارای تثبیت کننده ولتاژ داخلی می‌باشد، متصل گردد.
➢ سیستم برق دستگاه باید دارای سیم اتصال به زمین مناسب (ارت‌دار) باشد.

دستورالعمل فنی Microplate Reader

کلیات

Microplate Reader که " Elisa Reader" هم گفته می‌شود، یک فتومتر اختصاصی است که برای خوانش نتایج آزمایش‌ها به روش Elisa طراحی شده است، روشی که بوسیله آن وجود آنتی‌بادی یا آنتی‌ژن اختصاصی در نمونه بررسی می‌شود.

چگونگی کاربری

در Microplate Reader به علت وجود تعداد محدودی فیلتر یا diffraction grating دامنه طول موج‌هایی که در محدوده ۴۰۰-۷۰۰nm انتخاب می‌شوند، محدود هستند. دستگاه‌های الایزا ریدر از هر نوعی که باشند، تا حدودی ساختار مشابهی دارند. در بسیاری از این خوانشگرها سیستم نوری از نوع تک طول موج یا دو طول موج بوده و تا حدودی مشابه سایر تجهیزات فتومتری از فیلترهای خاصی جهت ایجاد طول موج مورد نظر بهره می‌گیرند.

نمونه‌های مورد آزمایش در پلیت‌های خاصی که حاوی چاهک ها (Well) می‌باشند، قرار می‌گیرد. این پلیت‌ها معمولاً دارای ۸ ردیف و ۱۲ ستون و به تعداد کلی ۹۶ چاهک هستند. برای انجام آزمایش بر روی نمونه‌ها، کنترل و استانداردها در چاهک‌های میکروپلیت قرار گرفته، مراحل انکوباسیون و شست‌وشو طبق دستورالعمل کیت انجام گرفته و در نهایت جذب نوری یا غلظت توسط Microplate reader خوانده می‌شود. برای عملکرد صحیح باید دستگاه در فضای تمیز و عاری از گرد و غبار باشد و بر روی یک میز ثابت و دور از وسایل ارتعاش‌زا (مانند سانتریفیوژ و ...) قرارگیرد و دستگاه باید دارای سیم اتصال به زمین باشد. در خصوص روش کار با دستگاه با توجه به وجود انواع مختلف میکروپلیت ریدر، بدیهی است که هر آزمایشگاه باید با توجه به مدل دستگاه روش کار آن را تدوین نماید.

نحوه نگه‌داری

* **نگه‌داری روزانه**

۱- در صورت امکان دسترسی، حسگرهای نوری هر کانال را از نظر تمیز بودن کنترل کنید (قبل از انجام با شرکت پشتیبان هماهنگ شود).

۲- مطمئن شوید که دستگاه و سیستم نوری تمیز است.

۳- مطمئن شوید که کالیبراسیون دستگاه صحیح است. وقتی کار روزانه را شروع می‌کنید اجازه دهید که دستگاه برای ۳۰ دقیقه گرم شود و سپس با پلیت خالی تمیز خوانش را انجام دهید. خوانش‌ها باید برابر باشند و یا در محدوده بسیار نزدیک ۰/۰۱ ± باشند. اگر

چنین نبود پلیت را ۱۸۰ درجه چرخانده و خوانش را تکرار کنید، به این وسیله مشخص می‌شود که اشکال از پلیت است و یا دستگاه ایراد دارد.

۴- سیستم اتوماتیک وارد و خارج کننده پلیت و صفحه حرکتی پلیت را کنترل کنید، حرکت پلیت باید نرم و مداوم باشد.

۵- استفاده از self check دستگاه که به طور اتوماتیک شدت نور خروجی - چرخش فیلترها، حرکت پلیت، صفحه نمایشگر و پرینتر را کنترل می‌کند.

ضمنا Self check را باید پس از سرویس، تعمیر و کالیبراسیون دستگاه انجام داده و ثبت نمود. ***در صورت اخطار شرکت پشتیبان را مطلع سازید.***

* **نگه‌داری پیشگیرانه در فواصل هر ۳ ماه یک‌بار**

۱- ثبات و تداوم منبع نوری (لامپ) را کنترل کنید. در بعضی از دستگاه‌ها با استفاده از یک پلیت کالیبره در فواصل هر ۱۵ دقیقه به مدت یک ساعت خوانش را انجام دهید و آن‌ها را مقایسه نمایید. نباید اختلافی وجود داشته باشد.

۲- در صورت امکان سیستم‌های ساطع‌کننده و دریافت‌کننده نوری را تمیز کنید.

۳- سیستم اتوماتیک وارد و خارج‌کننده پلیت را تمیز کنید.

۴- در یک امتداد بودن هر چاهک با منبع ساطع‌کننده و دریافت کننده (detector) نوری را کنترل کنید.

کنترل کیفی الایزا ریدر

کنترل کیفی الایزا ریدر شامل موارد زیر می شود:

- بررسی تکرار پذیری (repeatability)
- بررسی صحت
- بررسی خطی بودن (linearity)
- کنترل کالیبر بودن موتور جابجا کننده پلیت (Alignment)

نکات مهم:

• در صورت استفاده از محلول رنگی کنترل کیفی خطی بودن و صحت فتومتریک مطابق با سایر دستگاه‌های فتومتریک می‌باشد ولی باید از محلول‌هایی استفاده نمود که در طول موج‌های محدوده دستگاه الایزا ریدر قابل خوانش باشد.

• در صورتی که دستگاه دارای سه mode (central، fast و accurate) باشد، در هنگام کنترل کیفی بهتر است حالت accurate انتخاب شود.

• آزمون تکرارپذیری یا بررسی دقت

برای این آزمون می‌توان از محلول‌های رنگی در طول موج مشخص استفاده نمود. مثلا متیل اورنج حاوی ۰/۱ درصد tween 20 (methyl orange in 0/1% Tween 20) که خوانش آن در طول موج ۴۹۰ نانومتر انجام می‌شود. باید رقت‌های مختلف از این محلول به نحوی تهیه شود که OD بین ۱-۰، ۲-۱، و ۳-۲ قابل اندازه‌گیری باشد. حداقل ۳ بار خوانش از هر رقت صورت گرفته و OD میانگین حداقل و حداکثر را به دست آورده و اعداد به دست آمده باید در محدوده مشخصی باشند که توسط شرکت سازنده اعلام می شود که عمدتا محدوده مورد نظر ±1%mean می‌باشد و یا هر رقت را حداقل ۱۰ بار خوانده و میانگین، انحراف معیار و CV را به دست آورده که باید کمتر از CV مجاز باشد. برای اطلاع از CV مجاز باید به کتابچه دستگاه رجوع شود.

• بررسی صحت

هدف از این آزمون تعیین تفاوت جذب واقعی با جذب مشاهده شده می‌باشد. صحت فتومتری به توانایی منبع نوری در ارایه حداکثر تابش، نوع و کیفیت سیستم مونوکروماتور وابسته می‌باشد. این بررسی به سه روش انجام می‌شود.

الف) در صورت استفاده از محلول رنگی مانند متیل اورنج حاوی ۰/۱ درصد توئین ۲۰، باید OD خوانده شده توسط الایزا ریدر با OD خوانده شده در اسپکتروفتومتر مرجع طبق فرمول زیر مقایسه شود و درصد inaccuracy یا Bias مربوطه محاسبه شود که در این صورت عدم صحت نباید از ۱/۵ درصد بیشتر باشد و یا OD دستگاه مورد نظر باید در محدوده ±۰/۰۰۱ اسپکتروفتومتر مرجع (رفرانس) باشد.

$$\text{inacuracy} = \frac{\text{OD دستگاه} - \text{OD اسپکتروفتومتر مرجع}}{\text{OD اسپکتروفتومتر مرجع}} \times 100$$

نکته: به‌دلیل اختلاف در زاویه تابش نور و نیز اختلاف در کووت اسپکتروفتومتر با میکروپلیت الایزا ریدر، مقایسه OD این دو دستگاه از نظر برخی کارشناسان مورد سوال است.

ب) می‌توان از پلیت‌های کالیبره دارای فیلترهای مشخص استفاده نمود. این پلیت‌ها در مکان‌های تعیین شده دارای فیلترهای مشخصی هستند که بعد از خواندن این پلیت‌ها توسط دستگاه الایزا ریدر می‌توان OD به دست آمده را با OD بروشور پلیت کالیبره مقایسه نمود. در این صورت میزان inaccuracy از روی بروشور پلیت کالیبره محاسبه می‌شود.

ج) استفاده از محلول‌های تجاری مخصوص الایزاریدر و مقایسه OD بدست آمده با OD ارایه شده توسط شرکت سازنده (دارا بودن تاییدیه‌های معتبر بین‌المللی و یا آزمایشگاه مرجع سلامت برای این دسته از محلول‌های تجاری الزامی می‌باشد).

- **آزمون خطی بودن**

جهت آزمون خطی بودن می‌توان از محلول‌های تجاری با جذب نوری مشخص استفاده نمود. در صورتی‌که میانگین جذب نوری در رقت‌های مختلف در محدوده مورد انتظار باشد، نشاندهنده قابل قبول بودن این آزمون بوده و در غیراینصورت بایستی با شرکت سازنده مشورت نمود.

- **کنترل کالیبره بودن موتور جابجا کننده پلیت (Alignment)**

با استفاده از پلیت‌های کالیبره که دارای سوراخ‌هایی در مکان‌های مشخص هستند، صورت می‌پذیرد. این مکان‌ها وضعیت قرارگیری سیستم نوری پلیت ریدر را مشخص می‌نماید. وقتی پلیت کـالیبره بـا بـلانک هوا خوانده شود، سوراخ‌های این مکان‌ها، در وضعیت مطلوب، جذبی در محدوده ± 0.0150 خواهند داشت.

توجه:

همان‌طور که گفته شد، با استفاده از پلیت کالیبره (Check Plate) که دارای جذب نوری مشخص در فیلترهای تعبیه شده در طول موج‌های متفاوت هستند می‌توان آزمون صحت، تکرار پذیری، alignment و خطی بودن را انجام داد. همه این نتایج در صورتی قابل اطمینان هستند که پلیت کالیبره به فواصل منظم توسط یک مرکز قابل اطمینان تایید شده باشد. فیلترهای شیشه ای به کار رفته در پلیت‌های کالیبره، بسیار پایدار می‌باشند، اما به هر حال می‌توانند تحت تاثیر بخارات اسیدها و بازها یا قرار گرفتن در معرض اشعه ماوراء بنفش به مدت طولانی، آسیب ببینند. خراش شیشه باعث شکست ناخواسته نور شده و مقادیر جذبی (OD) را تغییر می‌دهد. نور ماوراء بنفش به مدت طولانی می‌تواند ترکیب فیزیکی شیشه را تغییر داده و اثر مشابهی ایجاد نماید. به علاوه وجود گرد و غبار، رسوبات و یا روغن بر سطح فیلترها باعث تغییر میزان جذب می‌شود. هم‌چنین پلیت کالیبره دارای سوراخ‌های دقیق Alignment می‌باشد، که ممکن است با افتادن و یا تغییر شکل، محل آن‌ها تغییر کند. عملکرد این سوراخ‌ها نیز توسط روغن یا رسوبات دچار اشکال می‌شود. به دلیل ایجاد این اشکلات، تایید کالیبر بودن این پلیت‌ها هر سال یک‌بار توصیه می‌شود.

کالیبراسیون

لازم به ذکر است که در صورت هرگونه اشکال در نتایج کنترل کیفی باید از صحت کالیبراسیون اطمینان حاصل کرد. ضمنا بعد از هر سرویس و یا هر سال یک بار باید کالیبراسیون توسط شرکت پشتیبان انجام گردد.

ایمنی

- قبل از باز کردن و تعمیر حتما سیم دستگاه از پریز برق بیرون آورده شود.
- باید هنگام کار با مواد شیمیایی خطرناک تمامی موارد ایمنی رعایت گردد.
- فقط با ولتاژ تعیین شده از دستگاه استفاده نمایید و در صورت جابه‌جایی دستگاه ولتاژ چک شود.
- تعمیر دستگاه نبایستی توسط کاربر صورت گیرد.
- از سوار کردن قطعات اضافه بدون نظارت شرکت پشتیبان خودداری نمایید.
- در زمان استفاده از دستگاه دقت نمایید پوشش دستگاه از روی آن برداشته شده باشد.
- به منظور پیشگیری از اثرات نوسانات جریان الکتریکی لازم است که:

➢ دستگاه به سیستم تثبیت کننده ولتاژ برق (Voltage Regulator) یا سیستم تامین کننده برق اضطراری (UPS) که دارای تثبیت کننده ولتاژ داخلی می‌باشد، متصل گردد.

➢ سیستم برق دستگاه باید دارای سیم اتصال به زمین مناسب (ارت‌دار) باشد.

دستورالعمل فنی دستگاه میکروپلیت واشر

کلیات

Microplate Washer یا "Elisa Washer" برای شست‌وشوهای مورد نیاز در روش Elisa طراحی شده است و به صورت کنترل شده بافر شست‌وشو را در مراحل مختلف انجام آزمایش وارد چاهک‌های میکروپلیت نموده و مواد اضافی را از محیط واکنش خارج می‌کند.

چگونگی کاربری

این دستگاه براساس طراحی شرکت‌های سازنده دارای اجزایی شامل میکروپروسسور جهت برنامه‌ریزی تعداد دوره‌های شست‌وشو، سوزن‌های مکش و تخلیه مایع و سه مخزن یکی جهت بافر شست‌وشو، دیگری برای نگه‌داری مواد زاید که در حین شست‌وشو ایجاد می‌شود و یکی برای آب مقطر جهت شست‌وشو است.

روش شست‌وشو: رایج‌ترین محلول‌های شست‌وشو، بافر فسفات یا PBS است که در حرارت ۴°C به مدت ۲ ماه پایدار است. برای شست‌وشوی هر چاهک ۳۰۰ تا ۴۰۰ میکرولیتر محلول در هر سیکل کاری استفاده می‌شود که به علت پایداری محلول تا ۲ ماه، هر بار می‌توان ۱-۳ لیتر محلول تهیه نمود. شست‌وشو می‌تواند دستی باشد اما استفاده از روش اتوماتیک برای به حداقل رساندن آلودگی بهتر است. در مرحله آسپیراسیون سوزن به صورت عمودی وارد چاهک شده و بلافاصله هنگامی که وارد مایع شد آن را آسپیره می‌کند. در برخی دستگاه‌ها شست‌وشو و آسپیراسیون همزمان عمل می‌کنند.

نحوه نگه‌داری

* **نگه‌داری پایه‌ای روزانه**

۱- حجم مایع توزیع شده را کنترل نمایید.
۲- یکسانی در پرشدن چاهک‌ها را کنترل نمایید.
۳- موثر بودن مکش را کنترل نمایید.
۴- از تمیز بودن سرسوزن‌ها مطمئن شوید.
۵- پس از استفاده از دستگاه برای خارج کردن بقایای نمک در کانال‌های مکنده می‌توان از محلول‌های Rinse استفاده کرد.
۶- بدنه دستگاه را تمیز کنید اگر لازم باشد بدنه را با پارچه مرطوب شده با یک دترژنت ضعیف تمیز نمایید.

۷- در صورت وجود بیمار HBS مثبت، HCV مثبت ویا HIV مثبت به جای محلول Rinse از وایتکس استفاده نموده و سپس سیستم را با آب مقطر شست‌وشو دهید.

* **نگه‌داری پیشگیرانه**

این مورد هرچهار ماه یک‌بار پیشنهاد می‌شود که شامل موارد زیر است:

۱- کانال‌ها و رابط‌ها را باز کرده و تمیز نمایید. از سالم بودن آن‌ها مطمئن شوید. اگر نشت یا هر نوع بقایای موارد خورده شده وجود داشت آن را برطرف نمایید یا آن قطعه را تعویض کنید.

۲- از سالم بودن اجزاء مکانیکی دستگاه مطمئن شوید. مطابق دستور شرکت سازنده از مواد لوبریکانت استفاده نمایید.

۳- اجزاء دستگاه را مطابق توصیه شرکت سازنده از نظر کالیبراسیون بررسی نمایید.

۴- سلامت رابط‌های الکتریکی و کابل‌ها را کنترل کنید.

۵- در صورت وجود گرفتگی، کانال‌های مکنده و دیسپنسر را با سوزن تمیز کنید.

نکته: در صورت عدم مهارت و تجربه کافی در انجام موارد فوق، شرکت سازنده را مطلع نمایید.

کالیبراسیون / کنترل کیفی

بررسی موقعیت سوزن‌ها

تنظیم موقعیت افقی و عمودی سوزن با چاهک باید به دقت بررسی شود. اگر پلیت دارای چاهک‌های با کف تخت هستند سوزن باید بسیار نزدیک به دیواره چاهک باشد. اگر کف چاهک گرد یا V شکل باشد سوزن مکنده باید در مرکز چاهک قرار گیرد.

ایمنی

- حتما قبل از باز کردن و تعمیر، سیم دستگاه از پریز برق بیرون آورده شود.
- باید هنگام کار با مواد شیمیایی خطرناک تمامی موارد ایمنی رعایت گردد.
- دستگاه باید در فضای تمیز و عاری از گرد و غبار قرار گیرد.
- دستگاه باید بر روی میز ثابت و دور از وسایل ارتعاش‌زا مانند سانتریفیوژ قرار گیرد.
- به منظور پیشگیری از اثرات نوسانات جریان الکتریکی لازم است که:

➢ دستگاه به سیستم تثبیت کننده ولتاژ برق (Voltage Regulator) یا سیستم تامین کننده برق اضطراری (UPS) که دارای تثبیت کننده ولتاژ داخلی می‌باشد، متصل گردد.

➢ سیستم برق دستگاه باید دارای سیم اتصال به زمین مناسب (ارت‌دار) باشد.

دستورالعمل فنی pH متر

کلیات

pH متر دستگاه الکترونیکی برای محاسبه pH مواد است. این دستگاه متشکل از دو بخش اصلی یعنی میله کاوشگر (probe) و اندازه‌گیر (meter) است. میله کاوشگر pH محلول را به سیگنال الکتریکی تبدیل کرده و اندازه‌گیر آن را تحلیل و میزان pH را نمایش می‌دهد.

pH مترها را می‌توان به دو گروه تقسیم‌بندی کرد که شامل:

گروه اول pH مترهایی که اصطلاحا به آن‌ها قلمی گفته می‌شود، این pH مترها ارزان، سبک و کوچک هستند ولی دقت کمتری نسبت به نوع دوم یعنی pH مترهای رو میزی دارند. pH مترهای نوع دوم بزرگ‌تر و گران‌تر هستند و معمولا در محل ثابتی نصب می‌شوند. این نوع pH متر دارای دقت بسیار بالاتری بوده و برخی از آن‌ها قابلیت سنجش پارامترهای دیگری علاوه بر pH را نیز دارند.

چگونگی کاربری

چگونگی کاربری دستگاه باید در هر مرکز بر اساس نوع دستگاه تدوین گردد ولی باتوجه به اساس مشترک آماده سازی انواع دستگاه‌ها این مرحله به‌طور مختصر بیان می‌شود.

آماده سازی

مرحله اول: قبل از شروع کار با pH متر ابتدا باید مطمئن شوید که میله جستجوگر در محلول نگهدارنده یا محلول با pH=4 نگه‌داری شده است. در غیر این صورت ممکن است pH متر در تعیین pH محلول مورد مطالعه دچار خطا شود. برای حل این مشکل میله جستجوگر را به مدت ۲ ساعت در آب مقطر نگه‌داری کنید و سپس آن را در محلول نگه‌دارنده قرار دهید.

مرحله دوم: بسیاری از pH مترهای رومیزی و برخی از pH مترهای قلمی قابلیت اندازه‌گیری پارامترهایی غیر از pH را نیز دارند. بنابراین لازم است مطمئن شوید pH متر شما در حالت اندازه‌گیری pH قرار دارد.

مرحله سوم: میله جستجوگر را به وسیله آب مقطر بشویید یا آن را در آب مقطر قرار داده و تکان دهید. حالا pH متر آماده فرآیند تنظیم (calibration) است.

نحوه نگه‌داری

نگه‌داری pH متر به دو روش صورت می‌گیرد: یکی مربوط به بدنه دستگاه است و دیگری برای الکترودها.

* **روش‌های نگه‌داری عمومی برای بدنه دستگاه:**

- سطح خارجی دستگاه و وضعیت کلی آن را بررسی نمایید (از تمیزبودن سطح خارجی دستگاه و اجزاء جانبی آن مطمئن شوید)
- کابل رابط دستگاه را کنترل نمایید و مطمئن شوید که تمیز و در وضعیت مناسب است برای این کار، دستگاه را از برق خارج نموده و سوزن اندیکاتور را روی صفر قرار دهید. اگر دستگاه صفحه نمایش دارد، کنترل نمایید که عملکرد آن طبیعی است.
- وضعیت بازوی جابجا کننده الکترود را کنترل نمایید. وضعیت اتصال الکترود را بررسی نمایید تا از شل‌شدن آن جلوگیری شود.
- باطری دستگاه را کنترل کنید و اگر لازم باشد آن‌ها را تعویض نمایید.
- عملکرد دستگاه را با استفاده از یک محلول با pH مشخص، امتحان نمایید.
- سیم اتصال به زمین را بررسی نمایید.

* **روش‌های نگه‌داری پایه‌ای جهت الکترودها:**

- الکترود را از محلول بافر نگه‌دارنده خارج نمایید.
- الکترود را با آب مقطر فراوان شست‌وشو دهید.
- پوشش فوقانی الکترود را خارج نمایید.
- محفظه اطراف الکترود داخلی را با محلول کلرید پتاسیم (KCL) اشباع، پر نمایید.
- پوشش الکترود را مجددا ببندید و الکترود را در آب مقطر شست‌وشو دهید.
- اگر از الکترود استفاده نمی‌شود آن را در بافر ذخیره نگه‌داری کنید.

تمیز کردن الکترود

نوع تمیزکردن بستگی به نوع ماده آلوده‌کننده آن دارد. شایع‌ترین روش‌های تمیزکردن به شرح زیر است:

تمیزکردن عمومی

الکترود را به مدت ۲۰ دقیقه در محلول ۰/۱ مولار اسید کلریدریک (HCL) یا ۰/۱ مولار اسید نیتریک (HNO_3) قرار دهید. سپس با آب شست‌وشو دهید.

حذف رسوبات و باکتری‌ها: الکترود را در یک محلول سفیدکننده خانگی (مثلا ۱٪) برای ده دقیقه قرار دهید. سپس با آب فراوان شست‌وشو دهید.

تمیز کردن روغن و گریس: الکترود را در یک دترجنت ضعیف یا الکل متیلیک شست‌وشو دهید سپس با آب شست‌وشو نمایید.

تمیز کردن رسوبات پروتئینی: الکترود را در محلول پپسین ۱٪ غوطه ور سازید و سپس برای ۵ دقیقه در محلول اسید کلریدریک ۰/۱ مولار قرار دهید. سپس با آب شست‌وشو دهید.

نکته: پس از هر تمیز کردن الکترود را با آب دیونیزه شست‌وشو دهید و مایع مرجع را قبل از استفاده مجددا پر کنید.

هشدارها:

- ***به الکترود ضربه نزنید. از آنجا که الکترود از جنس شیشه و بسیار شکننده است، باید آن را به دقت جابجا نمود و مراقب بود به آن ضربه وارد نشود.***
- ***به یاد داشته باشید که الکترود طول عمر محدودی دارد.***
- ***در صورت عدم استفاده باید الکترود را در محلول بافر ذخیره نگه‌داری نمود.***

اندازه‌گیری محلول ساده

در صورتی که قصد دارید با اضافه کردن ماده‌ای دیگر محلول خود را به pH خاصی برسانید، باید همزمان با اضافه کردن ماده و خواندن pH از روی اندازه‌گیر محلول شما به صورت مداوم هم زده شود، تا محلول به صورت یکدست درآید در غیر این صورت pH در نقاط مختلف محلول متفاوت خواهد بود و آزمایش را دچار خطا خواهد کرد. برای این منظور می‌توان از دستگاه استیرر و مگنت پلاستیکی مخصوص استفاده کرد. این دستگاه محلول را به صورت مداوم و با ایجاد حرکت دورانی در داخل محلول هم می‌زند. در صورتی که به این دستگاه دسترسی ندارید می‌توانید محلول را به صورت پیوسته تکان داده و یا به کمک میله شیشه‌ای یا پلاستیکی هم بزنید.

کنترل کیفی

بررسی صحت: باید از محلول شناخته شده (مانند آمپول‌ها یا ویال‌های بافر با pH مشخص) استفاده نمود و pH بدست آمده را با pH مورد انتظار مقایسه نمود و عدم صحت را از طریق فرمول زیر محاسبه نمود:

$$\%Bias=\frac{\text{عدد به دست آمده}-\text{عدد مورد انتظار}}{\text{عدد مورد انتظار}}\times 100$$

میزان عدم صحت مجاز pH متر ۱٪ است.

بـــررســـی دقـــت: pH یـک محـلول را ۱۰ بـار در یـک روز (within day CV) و چـند روز پیاپی (Between day CV) اندازه‌گیری نمایید و میانگین، انحراف معیار (SD) و CV را محاسبه کنید. میزان عدم دقت مجاز ۲٪ است.

کالیبراسیون

دستگاه باید قبل از استفاده کالیبره شود تا از صحت نتایج مطمئن باشید.

کالیبراسیون تک نقطه‌ای (one point calibration): این کالیبراسیون برای استفاده‌های معمول از pH متر کاربرد دارد و از یک محلول مرجع با pH مشخص استفاده می‌شود.

کالیبراسیون دو نقطه‌ای (two point calibration): این کالیبراسیون قبل از اندازه‌گیری‌های بسیار دقیق pH انجام می‌شود و از ۲ محلول مرجع با pH مشخص استفاده می‌شود. این نوع کالیبراسیون هم‌چنین در مواردی کاربرد دارد که استفاده از دستگاه به صورت گاه‌به‌گاه بوده و بنابراین نگه‌داری آن به صورت مرتب انجام نمی‌شود.

مراحل کالیبراسیون

- دستگاه را به برق وصل نمایید.
- درجه حرارت را روی حرارت محیط تنظیم کنید.
- ولت متر را تنظیم کنید.
- الکترود را از ظرف حاوی مایع نگه‌داری خارج کنید. الکترود همیشه باید در یک محلول مناسب نگه‌داری شود. بـرخـی را مـی‌تـوان در آب مقطر نـگـه‌داری نمود. بقیه را باید در محلولی که شرکت سازنده توصیه کرده نگه‌داری نمود. اگر بنا به دلایلی الکترود خشک شود، باید آنرا ۲۴ ساعت غوطه‌ور نمود.
- الکترود را در یک ظرف شیشه‌ای با آب مقطر شست‌وشو دهید.
- بدون آغشته کردن الکترود آن را با ماده‌ای که قابلیت جذب بقایای مایع از سطح آن را داشته باشد تمیز نمایید. برای جلوگیری از آلودگی احتمالی، الکترود را باید در هر مرحله کار با محلول‌های مختلف شست‌وشو داد.
- قراردادن الکترود در محلول کالیبراسیون که در روش دو نقطه‌ای دو محلول با pH های ۴ و ۷ استفاده می‌شود و در روش تک نقطه‌ای از یک محلول معمولا با pH برابر۷ استفاده می‌شود.

مراحل روش دو نقطه‌ای به صورت زیر می‌باشد:

- ابتدا کاوشگر یا probe را با آب مقطر بشویید و آن را در محلول با pH=4 قرار دهید. اجازه دهید اندازه‌گیر عدد ثابتی را نشان دهد. سپس اندازه‌گیر را روی pH=4 تنظیم کنید.
- سپس کاوشگر را در محلول با pH=۷ قرار داده، حداقل ۳۰ ثانیه زمان بدهید تا اندازه‌گیر عدد ثابتی را نشان دهد. سپس اندازه‌گیر را روی عدد ۷ تنظیم کنید (pH متر عدد ۷ را نشان می‌دهد).

حالا pH متر شما تنظیم شده و آماده اندازه‌گیری pH محلول‌های مورد آزمایش است.

نکته: قبل از قراردادن اندازه‌گیر در محلول مورد آزمایش آن را دوباره با آب مقطر بشویید تا باقی‌مانده محلول کالیبراسیون روی اندازه‌گیر، pH محلول مورد آزمایش را تغییر ندهد. در صورتی‌که می‌خواهید pH یک محلول را اندازه‌گیری کنید کافی است اندازه‌گیر را در محلول قرار داده و پس از ثابت شدن عددی که اندازه‌گیر نشان می‌دهد آن را بخوانید. این عدد pH محلول را نشان می‌دهد.

ایمنی

- هنگام استفاده از pH متر از دستکش آزمایشگاهی استفاده کنید.
- در صورتی که با محلول‌های خطرناک کار می‌کنید استفاده از ابزارهای محافظتی دیگر مثل عینک مخصوص آزمایش و ماسک توصیه می‌شود.
- در صورتی که محلول را به صورت دستی هم می‌زنید و یا تکان می‌دهید باید دقت کنید که حرکت دست شما طوری صورت گیرد که باعث پاشیده شدن محلول روی لباس و یا اطرافتان نشود. در صورتی که این اتفاق رخ داد به سرعت محل را بشویید.
- قبل از استفاده از هر ظرف و یا وسیله‌ای که با محلول مورد آزمایش در تماس خواهد بود، از آلوده نبودن آن با ماده‌ای دیگر مطمئن شوید.

دستورالعمل فنی رفرکتومتر

کلیات

رفرکتومتری به معنی تعیین ضریب شکست گازها، مایعات و جامدات نیمه شفاف، به‌وسیله دستگاه رفرکتومتر است. می‌توان از این مشخصه، برای شناسایی مواد یا ارزیابی خلوص آن استفاده کرد. اساس کار رفرکتومتر بر مبنای شکست نور هنگام عبور پرتو نور از محیطی به محیط دیگر با غلظتی متفاوت است که به علت تغییر سرعت نور و انحراف مسیر آن صورت می‌گیرد و به این شکست Refraction می‌گویند.

چگونگی کاربری

اندکس ضریب شکست نوری (Refractive index) یک محلول با مواد حل شده در آن ارتباط دارد. این اندکس بازتابی غیرمستقیم از وزن مخصوص بوده و نسبت سرعت نور در هوا به سرعت نور در محلول را نشان می‌دهد. محلول مورد نظر در جایگاه نمونه ریخته شده و از قسمت چشمی آن عدد خوانده می‌شود (ورود نور از محیط رقیق به غلیظ). قبل از هر بار ریختن محلول، منشورها کاملا تمیز شده و با مقدار کمی از محلول مورد نظر، شست‌وشو داده می‌شود.

نحوه نگه‌داری

* دستگاه در مکانی با نور کافی قرار گیرد.
* بعد از هر بار استفاده، منشور و پوشش آن کاملا با آب مقطر تمیز گردد.

کالیبراسیون

کالیبراسیون دستگاه به طور معمول با استفاده از آب مقطر انجام می شود که باید ۱۰۰۰ (وزن مخصوص آب مقطر ۱/۰۰۰ است) خوانده شود. در صورتی که عدد فوق بدست نیاید نیاز به تنظیم صفر دستگاه با استفاده از پیچ موجود روی دستگاه می‌باشد. که در این صورت کالیبراسیون نیاز به چک بیشتری دارد.

برای کنترل دستگاه بعد از تنظیم صفر دستگاه، از یکی از دو محلول زیر استفاده می‌شود:

Nacl 5% و Sucrose 9% که به ترتیب باید ۱/۰۲۲±۰/۰۰۱ و ۱/۰۳۴±۰/۰۰۱ باشد. در غیراین صورت دستگاه برای کالیبراسیون به شرکت پشتیبان ارجاع شود.

کنترل کیفی

• محاسبه میانگین و SD و رسم نمودار کنترل کیفی

در هر شیفت کاری باید از نمونه‌های کنترل با غلظت‌های Low, Medium, High استفاده شود و نتایج در فهرست کاری هر شیفت ثبت گردد و مشابه سایر نمونه‌های کنترل و بر اساس برنامه کنترل کیفی هر مرکز تفسیر گردد.

ایمنی

برای کار با این وسیله باید توجه نمود که محل نمونه‌گذاری خشک و تمیز باشد.

دستورالعمل فنی هودهای بیولوژیک

کلیات

هودهای بیولوژیک برای محافظت کاربر، محیط آزمایشگاه و مواد کار در برابر آئروسل‌ها و ترشحات آلوده‌ای که به هنگام کارکردن با مواد عفونی ایجاد می‌شوند (هم‌چون کشت‌های اولیه، نمونه‌های تشخیصی و ذخیره شده) طراحی شده‌اند. در طی سال‌های گذشته طرح اولیه هودهای بیولوژیک دستخوش تغییرات بسیاری شده است که عمده‌ترین آن افزودن یک فیلتر هوا با کارایی بالا در مقابل عبور ذرات (HEPA: High Efficiency Particulate Air) به سیستم هوای خروجی می‌باشد. این فیلتر می‌تواند ۹۹/۹۷ درصد ذرات با قطر ۰/۳ میکرون و ۹۹/۹۹ درصد ذرات بزرگ‌تر از این اندازه و یا کوچک‌تر را در خود حبس کند. به این ترتیب فیلتر HEPA تمام عوامل شناخته شده عفونی را فیلتر نموده و در صورت استفاده از این فیلتر می‌توان مطمئن بود که هوای خارج شده از هود عاری از میکروب می‌باشد.

دومین اصلاحی که صورت گرفته است، ورود مستقیم هوا از طریق فیلتر HEPA بر سطح کار می‌باشد که حفاظت مواد سطح کار را در برابر آلودگی فراهم می‌نماید. این ویژگی عمدتا برای محافظت از محصول است. این مفاهیم پایه‌ای به شکل‌گیری و تکامل سه کلاس از هودهای بیولوژیک انجامید.

آزمایشگاه بر اساس نیاز و این‌که چه گروه خطری را پوشش می‌دهد، باید هود مورد نیاز خود را خریداری کند.

گروه‌های خطر

- **گروه خطر ۱: (بدون خطر و یا با خطر فردی و جمعی کم)**

میکروارگانیسمی که باعث بیماری انسان و حیوان نمی‌شود به‌عنوان مثال اشریشیاکولی K12

- **گروه خطر ۲: (خطر فردی متوسط و خطر جمعی کم)**

پاتوژنی که می‌تواند باعث بیماری انسان و حیوان شود ولی خطر جدی برای فرد محسوب نمی‌شود، تماس‌های آزمایشگاهی ممکن است باعث بیماری جدی شوند اما درمان و اقدامات پیشگیرانه در دسترس بوده و خطر انتقال عفونت محدود می‌باشد. به‌عنوان مثال می‌توان از آسینتوباکتر بومانی، استافیلوکوکوس اروئوس، استرپتوکوکوس پنومونیه، اغلب آنتروباکتریاسه، تک‌یاخته‌ها، ورناویروس‌ها، اکوویروس‌ها، اپشتن بار ویروس نام برد.

- **گروه خطر ۳: (خطر فردی بالا و خطر جمعی متوسط)**

پاتوژنی که معمولا باعث بیماری جدی در انسان و حیوان می‌شود اما به‌صورت معمول از فردی به فرد دیگر سرایت نمی‌کند و درمان و اقدامات پیشگیرانه موثر وجود دارد. گونه‌های بروسلا،

مـایکوبـاکتریوم تـوبـرکلوزیس، پـاستورلا مـولتی‌سیدا، یرسینیا پستیس، هیستوپلاسما کپسولاتوم، ویروس دنگ، هانتا ویروس، ویروس HIV در این دسته قرار می‌گیرند.

• گروه خطر ۴: (خطر فردی و جمعی بالا)

پاتوژنی که باعث خطر جدی در انسان و حیوان می‌شود و به‌طور مستقیم و یا غیرمستقیم از فردی به فرد دیگر قابل انتقال می‌باشد. درمان و اقدامات پیشگیرانه موثر معمولا وجود ندارد. ویروس ابولا، ویروس لاسا، ویروس ماربورگ ویروس‌های تب خونریزی دهنده در این گروه قرار دارند.

انواع هود بیولوژیک

• هود بیولوژیک کلاس یک

هوای اتاق از طریق منطقه باز جلویی وارد هود شده و از سطوح کاری عبور کرده و از طریق مجرای خروجی هود تخلیه می‌شود. این هود اولین هود بیولوژیک شناخته شده بوده و بیش‌تر جهت کار با مواد رادیواکتیو و شیمیایی سمی فرار به کار می‌رود. از آنجایی که هوای غیراستریل اتاق از طریق فضای باز جلویی بر سطح کار هدایت می‌شود لذا هود بیولوژیک کلاس یک در خصوص حفاظت از محصول قابل اعتماد نمی‌باشد.

• هود بیولوژیک کلاس دو

با افزایش نیاز به کشت سلولی و بافتی برای تکثیر ویروس‌ها و دیگر موارد عبور هوای اتاق غیر استریل از روی سطوح کاری قابل قبول نیست. هود بیولوژیک کلاس دو نه تنها برای محافظت پرسنل، بلکه برای حفاظت سطح کار از هوای آلوده اتاق، طراحی گردیده است. این هودها خود دارای چهار نوع (A1، A2،B1، B2) هستند. این هودها اجازه می‌دهند تا هوای فیلتر شده استریل توسط فیلتر HEPA روی سطح کار جریان یابد.

از این هود می‌توان برای کار با عوامل عفونی در گروه‌های خطر ۲ و ۳ استفاده کرد.

در هود کلاس دو A1، به منظور تامین هوای هود، هوای اتاق توسط یک فن داخلی به درون سطح مشبک جلویی کشیده می‌شود. سرعت هوای ورودی می‌بایستی حداقل ۰/۳۸ متر بر ثانیه باشد. این هـوا قبل از عبـور بـه سمت پـایین و بـر روی سطح کـار از یـک فیلتر هپای تامین کننده هوا عبور می‌کند. هم‌چنان‌که هوا به سمت پایین هدایت می‌شود در فاصله حدودا ۶ تا ۸ سانتی‌متری مانده به سطح کار، هوا به دو سمت شکافته می‌شود و از شبکه‌های مشبک جلویی و عقبی عبور می‌کند. ذرات ائروسل که در سطح کار تولید شده باشند بلافاصله در این ریزش جریان هوا به دام افتاده و به قسمت‌های مشبک جلویی و عقبی انتقال داده می‌شوند و بدین‌وسیله بالاترین سطح حفاظت از محصول فراهم می‌شود. سپس هوا از طریق مجرای عقبی به درون فضای مابین فیلتر تامین هوای هود و فیلتر خروجی که در قسمت بالای هود تعبیه شده است رانده می‌شود. به علت اندازه این

فیلترها، حدودا ۷۰ درصد از هوا از طریق فیلتر هپا تامین‌کننده هوای هود، مجددا به درون ناحیه برگشت داده می‌شود و ۳۰ درصد باقی‌مانده نیز از طریق فیلتر خروجی به درون اتاق و یا خارج از اتاق رانده می‌شود. هوایی که از هود کلاس دو A1 خارج می‌شود می‌تواند دوباره به اتاق برگشت داده شود و یا این‌که از طریق اتصالات اختصاصی و کانال مخصوص در سیستم تهویه هوای ساختمان تخلیه شود. البته اتصال به سیستم خروجی مجزا این امکان را میسر می‌سازد که تعدادی از هودهای بیولوژیک برای کار با مواد رادیواکتیو فرار و یا سمی فرار به‌کار گرفته شوند. از این هود مطابق با استانداردهای جهانی و با کیفیت بالا در آزمایشگاه میکروبیولوژی به‌ویژه موارد سل و قارچ استفاده می‌شود.

هودهای بیولوژیک کلاس دو گروه A2، B1 و B2 از انواع تغییر یافته هود کلاس دو A1 هستند. این هودهای بیولوژیک از جنبه‌های متعددی با یکدیگر تفاوت دارند از جمله سرعت ورودی هوا از طریق قسمت باز جلویی، مقدار هوایی که به سطح کار برگشت داده می‌شود و از هود خارج می‌شود، سیستم خروجی که معین می‌کند که آیا هوای هود به اتاق وارد شود و یا از طریق سیستم تهویه اختصاصی یا عمومی ساختمان به بیرون هدایت شود.

- **هودهای بیولوژیک کلاس سه**

این نوع بالاترین سطح محافظت پرسنلی را فراهم نموده و برای عوامل خطر گروه ۴ به‌کار گرفته می‌شود. در این نوع از هودها تمام منافذ درزگیری شده‌اند (مانع نفوذ گاز). هوای ورودی از فیلتر HEPA عبور نموده و هوای خروجی از دو فیلتر HEPA عبور می‌کند. جریان هوای هود به وسیله یک سیستم خروجی که در سطح بیرون هود تعبیه شده است برقرار می‌شود که موجب می‌گردد قسمت داخلی هود تحت فشار منفی بماند. دسترسی به سطح کار از طریق دستکش‌های لاستیکی ضیخم که متصل به هود است صورت می‌گیرد. هود بیولوژیک کلاس سه باید دارای یک جعبه متصل برای عبور که بتواند استریل گردد و یک فیلتر HEPA باشد. هود کلاس سه ممکن است به یک اتوکلاو دو درب متصل بوده که بدین طریق برای آلودگی‌زدایی تمام موادی که به هود وارد و یا از آن خارج می‌شود به‌کار گرفته می‌شود. به‌منظور افزایش سطح کار می‌توان چندین جعبه دستکش را به آن متصل نمود. هود بیولوژیک کلاس سه برای کار در آزمایشگاه‌های سطح ۳ و ۴ ایمنی زیستی مناسب است.

چگونگی کاربری

بسته به نوع دستگاه متفاوت می‌باشد و باید به کتابچه راهنمای آن مراجعه نمود.

نحوه نگه‌داری

* شرایط محیطی دستگاه در دمای ۴۰-۵ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۶۵-۶۰٪ می‌باشد.
* نگه‌داری قسمت داخلی کابینت حتما باید توسط پرسنل مجرب و ماهر صورت گیرد.

* **روزانه:** تمیز نمودن دستگاه بعد از کار با محلول‌های پاک‌کننده مخصوص استیل و به‌کار بردن لامپ UV قبل و بعد از اتمام کار
* **هفتگی:** تمیز کردن بدنه دستگاه و سطح داخلی دستگاه با پارچه نرم و محلول‌های ملایم صابون (آب و پاک کننده ملایم) و اتانول ۷۰٪ و تمیز نمودن لامپUV دستگاه و شیشه جلو دستگاه با الکل اتانول ۷۰٪ وپارچه نرم.
* **ماهانه:** تمیز نمودن صفحه کلیدهای دستگاه و پاک کردن سطح بیرونی و بالایی کابینت و پاک کردن غبار با پارچه و پاک کردن و ضدعفونی کردن سطح پایین کابینت با اتانول ۷۰٪ یا یک ماده ضد عفونی کننده مناسب.

توجه:

از محلول‌های پاک کننده مخصوص استیل برای پاک نمودن کف و قسمت داخلی دستگاه استفاده شود.

* **سالانه:** این دستگاه سالی یک‌بار نیاز به سرویس کلی دارد که در این مورد باید با خدمات پس از فروش هماهنگی لازم به عمل آید. هم‌چنین باید کیفیت کار خارج از تنظیمات NSF49 نباشد و شدت لامپ UV با رادیومتر سنجیده شود که در صورت پایین بودن شدت تابش، باید لامپ عوض شود و لامپ فلورسنت از نظر روشنایی باید در حد کافی باشد.
* **نگه‌داری لامپ و فیلتر هپا**

استاندارد کارایی مطلوب لامپ UV. ۲۰۰۰ ساعت و فیلتر هپا ۳۰۰۰ ساعت تعیین شده که بعد از این مدت باید تعویض گردند.

ایمنی

- برای اتصال دوشاخه برق از اتصالات مشترک (سه راهی و...) استفاده نشود و هم‌چنین در هنگام تمیز نمودن قسمت‌های داخلی. دستگاه را خاموش نموده و تا خشک شدن کامل دستگاه از آن استفاده نگردد.
- در هنگام مشاهده هر نوع علایم غیرعادی در کار دستگاه با واحد خدمات پس از فروش تماس حاصل نمایید.
- از اسیدها، حلال‌های کلری و محلول‌های نمکی یا مواد شیمیایی خورنده برای پاک نمودن سطوح استیل ضد زنگ استفاده نشود.
- در زمانی که از دستگاه استفاده نمی‌شود حتما کلید power دستگاه در حالت خاموش قرار گیرد.
- در موقع استفاده از برق شهر حتما از پریز ارت‌دار استفاده شود و اگر پریز ارت‌دار نبود حتما یک رشته سیم از بدنه دستگاه به لوله آب فلزی وصل نمایید.
- کابل دستگاه در مجاورت وسائل حرارت‌زا و اشیای تیز و برنده قرار نگیرد.

- قسمت‌های فنی دستگاه نباید به‌وسیله افراد متفرقه دستکاری شود و در این خصوص حتما با شرکت پشتیبان تماس گرفته شود.
- هنگام کار با دستگاه حتما از لباس و روپوش آزمایشگاه استفاده شود.
- حداقل ۱۰ دقیقه قبل از شروع کار هود را روشن کنید.
- به‌طور هفتگی لامپ UV را با الکل ۷۰٪ تمیز کنید.
- برای ضدعفونی کردن هود می‌توان از هیپوکلریت‌سدیم، الکل۷۰٪ و یا هر ماده دیگری که شرکت سازنده توصیه می‌کند استفاده کرد.
- فیلتر هود را پس از ساعت کاری مشخص (که معمولا در کتابچه راهنمای آن قید می‌گردد) تعویض کنید.
- هودهای بیولوژیکی باید سالانه توسط افراد فنی کنترل کیفی شده و مستندات آن نگه‌داری شوند.

دستورالعمل فنی دستگاه های روتاتور سرولوژی، شیکر و میکسر

کلیات

روتاتور

جهت ایجاد حرکات دورانی با سرعت مناسب و جهت مخلوط کردن محتویات لوله به طور یکنواخت با تعداد دور مناسب با توجه به توصیه کیت مورد استفاده، از این دستگاه استفاده می‌شود.

شیکر الایزا

این دستگاه جهت مخلوط نمودن محلول انواع میکروپلیت به کار می‌رود و با ایجاد حرکت سریع با قطر چرخش کم باعث مخلوط شدن مناسب معرف‌ها و در نتیجه پیشرفت واکنش در طی زمان و عدم تغییر جذب و بروز خطا می‌شود.

اوربیتال شیکر (شیکر سرولوژی)

این دستگاه دارای صفحه‌ای افقی است و با تغییر پیچ تنظیم تغییر سرعت، دور آن تغییر می‌کند. این دستگاه دارای موتور گیربکسی است که عمل هم زدن را با یک حرکت افقی انجام می‌دهد و صفحه آن با یک لایه لاستیکی غیر لغزنده پوشانده شده است.

رولر-میکسر هماتولوژی

برای مخلوط نمودن و یکنواخت کردن خون حاوی ماده ضدانعقاد و یا هموژن کردن سایر محلول‌ها در آزمایشگاه به کار می‌رود. دارای پنج یا شش غلتک می‌باشد که به کمک موتور در دو جهت چپ و راست و بالا و پایین حرکت می‌کنند.

ورتکس

این دستگاه جهت مخلوط کردن محتویات درون لوله با حداکثر قدرت در زمان کوتاه مورد استفاده قرار می‌گیرد.

چگونگی کاربری

چگونگی کاربری در هر آزمایشگاه با توجه به کتابچه دستگاه تدوین می‌شود.

نحوه نگه‌داری

* بعد از هر بار کارکردن با دستگاه در **هر روز**، باید صفحه آن تمیز گردد.
* صفحه کلید دستگاه **هر هفته** باید با الکل ۷۰ درصد تمیز شود.
* جهت جلوگیری از ریختن محلول‌ها حتی‌الامکان درب ظروف را با پارافیلم بسته و روی پلیت‌ها را بپوشانید.
* در صورت ریختن یا پاشیدن محلول‌ها، ابتدا صفحه شیکر را جدا کنید سپس آن را با پارچه آغشته به ماده دترجنت تمیز نمایید. قبل از اتصال مجدد صفحه شیکر از خشک شدن آن

مطمئن شوید. قبل از استفاده مجدد مطمئن شوید که شیکر در سطح افقی و بر روی سطح محکم قرار گرفته است.

* چهار بوش پلاستیکی که صفحه شیکر را حمایت می‌کنند **باید هر سه ماه یکبار** توسط گریس، روان‌کاری شود.
* دستگاه **سالانه** نیاز به سرویس توسط شرکت پشتیبان دارد.

کنترل کیفی

برای کنترل کیفی این دستگاه‌ها باید سرعت و زمان و دما (در شیکرهای انکوباتوردار) نمایش داده شده توسط تاکومتر و زمان‌سنج و ترمومترکالیبره بررسی شود و این کار هر ۳ ماه یکبار صورت می‌گیرد.

کنترل کیفی سرعت

کنترل کیفی سرعت توسط تاکومتر استاندارد و به صورت زیر صورت می‌گیرد:

- قطعه‌ای از نوار انعکاسی را به صفحه شیکر بچسبانید.
- سرعت مورد نظر را تنظیم کرده و شیکر را روشن کنید و اجازه دهید تا به حداکثر سرعت رسیده، ثابت گردد (حدود ۵ ثانیه).
- با استفاده از تاکومتر میزان RPM را مشخص نمایید (حداقل ۱۰ ثانیه).
- عدد به دست آمده را یادداشت کنید.
- سپس کلید تنظیم سرعت را با توجه به عدد به دست آمده اصلاح نمایید.
- این عمل را در سرعت‌های مختلف طیف (رهایی دستگاه) تکرار نمایید (بهتر است سرعت‌هایی که بیشتر مورد استفاده هستند را جهت کنترل انتخاب نمایید).
- نتایج به دست آمده را با ذکر تاریخ بررسی در Log Book ثبت نمایید.

کنترل کیفی زمان سنج

پس از تنظیم زمان مورد نظر و روشن کردن شیکر به طور همزمان با استفاده از زمان‌سنج کالیبره، زمان را ثبت کنید. این کار را در زمان‌های مختلف تکرار می‌کنید و در صورت اختلاف زمانی، آن را تصحیح نمایید.

کنترل کیفی حرارت

- در مورد شیکرهای انکوباتوردار (Thermo-Shakers) باید دمای داخل محفظه شیکر را نیز کنترل نمود. برای این کار حسگرهای ترمومتر دیجیتال را داخل شیکر قرار داده، دمای مورد

نظر را تنظیم کرده، درب شیکر را ببندید و دستگاه را روشن کنید. اجازه دهید تا دمای مورد نظر ثابت گردد سپس آن را یادداشت نمایید و در صورت وجود اختلاف دمایی کلید تنظیم دما را اصلاح نمایید.

کالیبراسیون

معمولا در ابتدای نصب دستگاه و پس از آن به صورت سالانه، توسط شرکت پشتیبان از نظر تعداد دور در دقیقه، زمان و دما (در مورد شیکرهای انکوباتوردار) انجام می‌گیرد.

ایمنی

- در صورت عدم استفاده از دستگاه بعد از توقف کامل دستگاه، باید کلید اصلی برق دستگاه که در پشت دستگاه قرار دارد را در حالت خاموش قرار داد.
- بار بیش از حد روی دستگاه قرار داده نشود.
- هنگام استفاده از ظروف در باز، از دور مناسب استفاده شود تا مایع از داخل آن‌ها بیرون نریزد.
- در صورت بروز هرگونه خرابی و یا اشکال در دستگاه با نمایندگی و یا شرکت پشتیبان تماس حاصل نمایید.
- استفاده از پارچه خیس برای تمیز کردن دستگاه به دلیل امکان شوک الکتریکی توصیه نمی‌شود.

دستورالعمل فنی تجزیه‌گر خودکار شیمی (دستگاه اتوآنالایزر)

کلیات

اصطلاح اتوماسیون در بیوشیمی بالینی به فرآیندی اطلاق می‌گردد که یک دستگاه تعداد زیادی از آزمایش‌ها را با دخالت اندک نیروی انسانی انجام می‌دهد. اتوآنالایزرهای بیوشیمی، دستگاه‌هایی هستند که غلظت متابولیت‌ها، الکترولیت‌ها، پروتئین‌ها و داروها را در سرم، پلاسما، ادرار، مایع نخاعی (CSF) و سایر مایعات بدن، اندازه‌گیری می‌کنند. عملکرد عمومی دستگاه‌ها به این صورت است که با انتخاب آنالیت مورد نظر در رایانه دستگاه، سیستم محل قرارگیری نمونه را مشخص و با استفاده از پمپ مکنده، حجم مشخصی از نمونه و معرف‌ها را برداشت می‌نماید. پس از مخلوط شدن و انکوباسیون در دمای مشخص به مدت معین، تغییرات چگالی نوری که در اثر عبور نور از محلول نهایی حاصل شده، در قسمت فتومتری توسط یک آشکارساز نوری به سیگنال الکتریکی تبدیل و پردازش می‌شود تا نتیجه مورد نظر را ثبت کند.

مزایای به‌کارگیری اتوآنالایزرهای بیوشیمی در آزمایشگاه:

۱ـ افزایش دقت نتایج آزمایش

۲ـ افزایش سرعت و حجم کاری Work Load

۳- صرفه‌جویی در مصرف نمونه (Sample) و معرف (Reagent)

۴ـ کاهش و حتی حذف خطاهای انسانی

۵ـ کاهش هزینه‌های جانبی و کاهش کارکنان در آزمایشگاه در دراز مدت

نکته مهم: باید در نظر داشت علی‌رغم این‌که استفاده از اتوآنالایزرها منجر به افزایش تکرارپذیری نتایج می‌گردند اما این موضوع و هم‌چنین درستی نتایج، بسیار تحت تاثیر معرف‌ها، کالیبراتورهای مورد استفاده و نیز شوینده‌های سیستم و ظروف آن‌ها، قرار دارد.

● تقسیم‌بندی اتوآنالایزرهای بیوشیمی

اتوآنالایزرهای بیوشیمی از لحاظ قابلیت برنامه‌ریزی و نوع خوانش به دو گروه اصلی تقسیم می‌شوند.

➢ **انواع اتوآنالایزرهای بیوشیمی از لحاظ قابلیت برنامه‌ریزی (Programming)**

اتوآنالایزرها از نظر قابلیت برنامه‌ریزی به دو گروه عمده باز (Open) و بسته (Closed) تقسیم می‌شوند.

در سیستم‌های باز (Open) کاربر قادر است کیت‌های متنوعی را روی دستگاه نصب و پارامترهای هر آزمایش را تغییر دهد، در حالی که در سیستم‌های بسته (Closed) پارامتر آزمایش‌ها توسط سازنده دستگاه برنامه‌ریزی شده و قابل تغییر نمی‌باشند و لذا فقط باید از کیت‌های کمپانی سازنده

برای دستگاه استفاده گردد. بدیهی است هر یک از این دو دسته مزایا و معایب خاص خود را دارا می‌باشند.

- **انواع اتوآنالایزرهای بیوشیمی از لحاظ نوع خوانش (Reading Method)**

اتوآنالایزرهای بیوشیمی از نظر نوع خوانش به سه گروه تقسیم می‌شوند:

۱ـ سیستم‌های Batch : خوانش آزمایش‌ها در محلی به نام فلوسل و به صورت آزمایش به آزمایش انجام می‌گیرد.

۲- سیستم‌های Random Access: سیستم آزمایش‌های مورد درخواست بر روی هر نمونه در یک سری کاری را به ترتیب انجام می‌دهد. در این سیستم خوانش در کووت واکنش و به صورت بیمار به بیمار انجام می‌گیرد.

۳ـ سیستم‌های Time Optimized Multi Batch: خوانش آزمایش‌ها در محلی به نام فلوسل به صورت آزمایش به آزمایش و یا بیمار به بیمار انجام می‌شود.

چگونگی کاربری و نگه‌داری

نحوه استفاده و نگه‌داری از هر دستگاه بر اساس دستورالعمل سازنده تعیین می‌گردد ولی نکاتی که در این بخش برای نگه‌داری از این دستگاه پیشنهاد شده، قابل تعمیم به بیشتر دستگاه‌های اتوآنالایزر می‌باشند:

۱ـ توجه به دستورالعمل نحوه کار دستگاه (User Manual) و اجرای تمامی برنامه‌های نگه‌داری توصیه شده درآن

۲ـ بازدید ظاهری قطعات و تعویض آنها در فواصل کاری معین

۳ـ انجام سرویس‌های دوره‌ای به صورت مرتب توسط افراد مجاز شرکت پشتیبان دستگاه

۴ـ تعویض قطعات مصرفی دستگاه مانند لامپ، سرنگ نمونه‌برداری، فیلترها و ... در دوره‌های منظم کاری با توجه به دستورالعمل فنی

۵ـ نظافت مرتب و زمان‌بندی شده دستگاه و شست‌وشوی پروب‌ها، فلوسل، کووت‌ها و ظرف معرف‌ها و Waste

۶ـ روغن‌کاری قسمت‌های هیدرولیک و سرویس مرتب آن‌ها

۷ـ استفاده از UPSهای دارای ولتاژ رگولاتور داخلی و اتصال دستگاه به خط زمین و حذف تداخل‌های مزاحم

۸ـ توجه به رطوبت و حرارت و شرایط محیطی مورد نیاز برای دستگاه (رطوبت: ٪۸۵ - ۴۰، دما ۲۰-۲۵°C و دور نگه‌داشتن دستگاه از نور خورشید، گرد و غبار، مواد شیمیایی زاید، لرزش و میدان‌های مغناطیسی)

۹ـ پیش‌بینی قطعات یدکی مورد لزوم: فیوز، لامپ، تیوب‌ها (لوله‌های انتقالی)، سوزن‌ها، فیلترهای پاک‌کننده و غیره.

۱۰- کنترل برنامه و پارامترهای دستگاه در فواصل هفتگی یا پس از هر تغییر یا تعویض کیت و یا پس از هر جواب اشتباه یا غیر محتمل

۱۱- استفاده از کاربر مشخص در هر شیفت کاری

۱۲- دستگاه را حداقل ۳۰ دقیقه قبل از شروع کار روشن و مراحل آماده سازی آن را انجام دهید.

انواع خطا در آنالایزهای بیوشیمی

الف: خطای راندوم

خطای راندوم یا تصادفی به یکی از دلایل زیر به وجود می‌آید:

- دمای ناپایدار
- نوسانات جریانات الکتریکی دستگاه
- وجود حباب هوا در زمان انتقال نمونه یا معرف
- عدم رعایت حجم برداشتی از نمونه یا معرف
- عدم رعایت زمان انکوباسیون
- ناپایداری معرف
- عدم رعایت شرایط نگه‌داری نمونه
- آلودگی ظروف مورد استفاده، نوک سمپلرها و نظیر آن
- آلودگی نمونه، کنترل یا معرف
- اشکال لحظه‌ای در سیستم‌های مکانیکی، الکترونیکی، هیدرولیکی یا نوری دستگاه

ب: خطای سیستماتیک

خطای سیستماتیک به یکی از دلایل زیر به‌وجود می‌آید:

- اشکال در کالیبراسیون مانند اشتباه وارد کردن مقادیر کالیبراتور، تهیه نامناسب کالیبراتور، آلودگی، افت غلظت، تغلیظ، تغییر شماره ساخت و نظیر آن
- تعویض و تغییر معرف بدون انجام کالیبراسیون جدید
- خراب شدن معرف
- عدم رعایت دستورالعمل سازنده برای تهیه معرف
- تغییر در دمای انکوباسیون
- اشکال ثابت در سیستم‌های مکانیکی، الکترونیکی، هیدرولیکی، سیستم نمونه‌برداری یا نوری دستگاه

کنترل کیفی

برای اطمینان از عملکرد مناسب یک دستگاه اتوآنالایزر باید فاکتورهای متعددی را بررسی نمود که برخی از آنها توسط شرکت پشتیبان و بعضی توسط کاربر دستگاه قابل اجرا می‌باشند. بدیهی است در صورت عدم امکان بررسی کیفیت دستگاه توسط کاربر، اجرای این فعالیت‌ها توسط شرکت پشتیبان و ارایه گواهی کتبی مبنی بر مناسب بودن عملکرد دستگاه در زمینه‌های مورد بررسی، کفایت می‌نماید.

۱- کنترل کیفیت بخش فتومتری توسط شرکت پشتیبان

کنترل کیفیت قسمت فتومتریک دستگاه لازم است هرسال یک مرتبه توسط کارشناس شرکت پشتیبان (از طریق اندازه‌گیری ولتاژ PMT دستگاه) انجام گردد.

مقادیر زیر به‌عنوان حداکثر خطای قابل قبول در محدوده جذب نوری ۲٫۵-۰ در منابع مختلف ذکر شده است:

Photometric Accuracy = ± 1% Linearity = ±0.5%

Wavelength Accuracy = ±2nm Stray Light < 2%

میزان نویز فیلترها برای یک واحد جذب نوری (1A) نباید از ±۰/۰۰۵ واحد جذب نوری بیشتر باشد (حداکثر خطای قابل قبول در آزمون Linearity توسط شرکت پشتیبان و یا سازنده اعلام می‌شود و در منابع مختلف، متفاوت می‌باشد).

۲- کنترل خطی بودن (Linearity) بخش فتومتری و برداشت (نمونه و محلول) در اتوآنالایزر توسط کاربر

در این آزمون میزان جذب (OD) یک ماده رنگی که در غلظت‌های مختلف توسط برداشت حجم‌های مختلف از آن ماده بدست می‌آید، خوانش و نتیجه حاصله با نتیجه مورد انتظار مقایسه می‌گردد. بدین منظور یک محلول رنگی یکنواخت و پایدار تهیه و به عنوان نمونه به دستگاه اتوآنالایزر معرفی می‌شود. برای تهیه رقت‌های مختلف، یک محلول رقیق‌کننده در جایگاه معرف قرار گرفته و سپس با تعریف پارامترهای مناسب، رقت‌های مختلف از محلول اولیه تهیه و در طول موج مورد نظر، قرائت می‌گردد. باید در نظر داشت که این بررسی می‌تواند علاوه بر خطی بودن فتومتر تحت تاثیر درستی برداشت نمونه در حجم‌های مختلف نیز قرار گیرد، بنابراین در صورت اخذ نتیجه نامناسب باید هر دو این موارد (خطی بودن و درستی برداشت) مورد بررسی قرار گیرند.

اساس اجرای این آزمون در ادامه توضیح داده شده و پارامترهای مورد نیاز برای برخی دستگاه‌های رایج در کشور در ضمیمه این دستورالعمل تحت عنوان «راهنمای تعریف پارامترهای پیشنهادی برخی از اتوآنالایزرها جهت آزمون خطی بودن و بررسی دقت» آمده است:

مواد و وسایل لازم :

۱. دی کرومات پتاسیم
۲. آب مقطر (آب دیونیزه)
۳. ترازوی کالیبره (با حساسیت ۰.۰۰۰۱ گرم)
۴. بالن ژوژه کالیبره ۱۰۰ میلی‌لیتر کلاس A
۵. اسید پرکلریک 0.001M و یا اسید سولفوریک 0.005 M

الف – طرز تهیه محلول دی کرومات پتاسیم برای بررسی جذب کمتر از ۱/۵

برای تهیه محلول (۰/۱۸ gr/dL) دی‌کرومات پتاسیم مقدار ۰/۱۸۰ گرم از پودر دی‌کرومات پتاسیم (که لازم است قبلا در فور خشک شود) را در یک بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتر ریخته و با اسید پرکلریک ۰/۰۰۱ مولار و یا اسید سولفوریک ۰/۰۰۵ مولار به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر برسانید. لازم به ذکر است که می‌توان محلول فوق را با رقت سازی ۱/۲ از محلول زیر (ب) به‌دست آورد.

ب – طرز تهیه محلول دی‌کرومات پتاسیم برای بررسی جذب ۱ تا ۲/۵

برای تهیه محلول (۰/۳۶ gr/dL) دی‌کرومات پتاسیم مقدار ۰/۳۶۰ گرم از پودر دی‌کرومات پتاسیم (که لازم است در فور خشک شود) را در یک بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتر ریخته و با اسید پرکلریک ۰/۰۰۱ مولار و یا اسیدسولفوریک ۰/۰۰۵ مولار به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر برسانید.

نکته: با توجه به اینکه استفاده از اسیدها ممکن است برای بعضی از اتوآنالایزرها مشکل آفرین باشد، قبل از انجام این آزمون با شرکت سازنده تماس بگیرید.

ضمنا برای انجام این آزمون می‌توان از محلول ۲ کراتی‌نین به روش جافه (اسید پیکریک) استفاده نمود.

➢ **روش اجرا:**

۱- محلول تهیه شده را در جایگاه نمونه و اسید پرکلریک 0.001M و یا اسید سولفوریک 0.005M (اسیدی که برای به حجم رساندن اولیه استفاده شده) را در جایگاه معرف (Reagent) قرار دهید.

۲- پارامترهای لازم برای برداشت حجم را به‌گونه‌ای تعریف کنید که اولین رقت حدود ۱۰-۸ درصد محلول اولیه به‌دست آید. به‌عنوان مثال محلول برداشت ۲۰ میکرولیتر نمونه و ۲۳۰ میکرولیتر اسید رقیق شده (حجم نهایی محلول ۲۵۰ میکرولیتر) پیشنهاد می‌شود.

پیشنهاد می‌شود تعداد حداقل ۷ نمونه رقت برای انواع اتوآنالایزرها مطابق «راهنمای تعریف پارامترهای پیشنهادی برخی از انواع اتوآنالایزرها جهت آزمون خطی بودن و بررسی دقت» تهیه شود.

۳- جذب نوری هر یک از نمونه‌های فوق ۱۰ بار اندازه‌گیری شده و میانگین نتایج آنها محاسبه شود. به عنوان مثال نتایج یک آزمایش عملی در جدول ۲۷-۱ درج گردیده است.

۴- برای محاسبه مقادیر مورد انتظار (expected) از نمونه‌ای که جذب نوری بین ۰/۴ الی ۰/۶ دارد (همانند ردیف ۳ در جدول ۲۷-۱) به عنوان مبنا استفاده می‌شود و مقادیر مورد انتظار هر یک از نمونه‌ها از فرمول زیر به‌دست می‌آید:

حجم نمونه مبنا / جذب نوری مبنا × حجم نمونه = مقدار جذب نوری نمونه مورد انتظار

به‌طور مثال برای ردیف اول داریم:

۲×۰/۵۹۰/۸=۰/۱۴۷ = مقدار جذب نوری نمونه مورد انتظار

مقدار مورد انتظار برای رقت‌های بعدی نیز مطابق با فرمول بالا محاسبه و در جدول ۲۷-۱ درج گردیده است.

در ادامه خلاصه مراحل فوق و نتایج حاصل از جذب نوری خوانده شده و مورد انتظار در جدول ۲۷-۱ شرح داده شده است

جدول ۲۷-۱: نتایج حاصل از جذب نوری خوانده شده و مورد انتظار در یک اتوآنالایزر

ردیف	حجم نمونه / حجم کل(حجم نمونه و معرف)	جذب نوری مورد انتظار	جذب نوری خوانش شده
۱	۲/۲۵۰	۰/۱۴۷	۰/۱۴۳
۲	۵/۲۵۰	۰/۳۶۸	۰/۳۶۱
۳	۸/۲۵۰	۰/۵۹۰	۰/۵۹۰
۴	۱۱/۲۵۰	۰/۸۰۹	۰/۸۰۲
۵	۱۴/۲۵۰	۱/۰۳۱	۱/۰۳۰
۶	۱۷/۲۵۰	۱/۲۵۳	۱/۲۴۹
۷	۲۰/۲۵۰	۱/۴۷۵	۱/۴۳۱

Slope =۰/۹۸۱

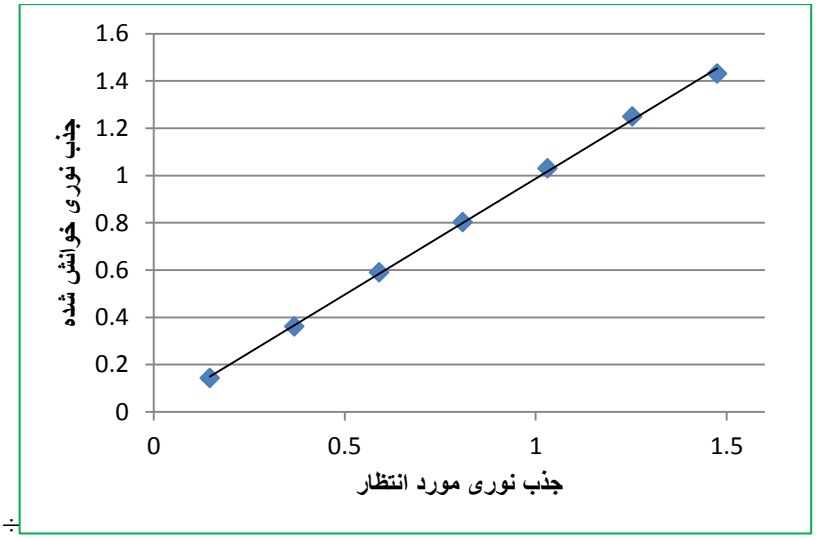
Intercept =-۰/۰۰۶

y =۰/۹۸۱x-۰/۰۰۶

روش‌های محاسباتی با استفاده از نرم افزارهای مختلف

استفاده نرم افزار Excel

تمامی نتایج به‌دست آمده و اعداد مورد انتظار را در دو ستون به موازات هم وارد نمایید. روی یک خانه خالی کلیک کرده و از formula bar قسمت *fx* انتخاب نمایید. صفحه‌ای به‌نام insert function باز می‌شود. در قسمت خالی کلمه slope را تایپ و OK نمایید. در قسمت known y خانه‌های مربوط به نتایج حاصله و در قسمت known x خانه‌های مربوط به اعداد مورد انتظار را انتخاب و OK نمایید. نتیجه حاصله شیب خط یا Slope را نشان می‌دهد. برای محاسبه intercept مجددا مراحل بالا را تکرار و لی در صفحه insert function کلمه intercept را انتخاب و سایر مراحل را مطابق بالا ادامه دهید. میزان r نیز به همین روش و با تایپ کلمه correlation در قسمت خالی به‌دست می‌آید. در صورتی که بخواهید نتایج را به صورت نموداری ببینید، ابتدا کل اعداد دو ستون را انتخاب کرده و سپس بر روی گزینه insert رفته و بر روی Scatter chart کلیک کرده و سپس نمودار Scatter از بالا سمت چپ را انتخاب کنید. در نمودار ۳-۱ نمودار رگرسیون آزمایش عملی حاصل از جدول ۲۷-۱ رسم گردیده است.



نمودار ۳-۱: نمودار رگرسیون آزمایش عملی مندرج در جدول ۲۷-۱

استفاده از نرم افزار SPSS

بدین منظور تمامی نتایج به‌دست آمده و اعداد مورد انتظار را که مطابق بند ۴ در روش اجرا به‌دست آمده در دو ستون به موازات هم وارد نمایید. با توجه به اینکه میزان مورد انتظار از حاصل‌ضرب حجم نمونه/حجم مبنا در میانگین خوانش‌های مستقیم به‌دست می‌آید، اعداد مورد انتظار برای هر رقت ثابت می‌باشد. از قسمت Analyze، برنامه regression را انتخاب و از این قسمت linear را انتخاب نمایید. در قسمت linear regression میزان مورد انتظار را در قسمت Independent (محور Xها) و مقادیر به‌دست آمده را در قسمت Dependent (محور Yها) وارد کرده و از همین قسمت statistic را مجددا انتخاب و قسمت‌های confidence interval، descriptive و casewise diagnostic را علامت زده و سپس continue را انتخاب و OK کنید. به منظور رسم منحنی مجددا از قسمت Analyze، برنامه رگرسیون و سپس Curve estimation را انتخاب و نتایج مورد انتظار و به‌دست آمده را مانند توضیح بالا به ترتیب در قسمت Independent و Dependent وارد کرده و سپس display anova table را علامت زده و OK نمایید.

استفاده از نرم افزار MultiQC

در صورتی که داده‌های حاصل از آزمون خطی بودن به نسبت مساوی کاهش یا افزایش یابد یا به عبارتی مجموعه داده‌ها به صورت تصاعد حسابی باشند می‌توان از این نرم‌افزار استفاده نمود. برای استفاده از این نرم‌افزار ابتدا بر روی Configure کلیک و سپس Analyte و بعد از آن archive و delete و edit و create را انتخاب کنید. سپس در صفحه ظاهر شده نام section و name را به ترتیب و به‌عنوان مثال Biochemistery و Autoanalyzer (که می‌توان در همین صفحه آن‌ها را تعریف کرد) و واحد مربوطه OD را تعریف و انتخاب نمایید و بعد از آن بر روی Create analyte کلیک کنید. در این حالت در ستون سمت راست نام بخش و آنالیت همراه با صفحه کنترل کیفی ظاهر می‌شود. حال بر روی Events در ردیف بالا کلیک و F8 یا کلمه Linearity را انتخاب نمایید. در صفحه ظاهر شده بر روی tolerance مقادیر تولرانس نسبی به صورت پیش فرض ۱۰٪ است که می‌توان آن‌ها را با توجه به برنامه کنترل کیفی تغییر داد و یا بدون تغییر از آن صفحه خارج شد. در این صفحه زمان و تاریخ به صورت پیش فرض و به میلادی درج گردیده است. در باکس Comment می‌توان عنوان آزمون را به فارسی یا انگلیسی تایپ نمود. سپس تعداد رقت‌های مورد نظر در باکس Dilutions از اعداد ۵ تا ۹ را انتخاب نمایید. سپس مقادیر OD به‌دست آمده (از یک تا سه بار تکرار) را به ترتیب صعودی در ستون‌های Assay1 تا Assay3 وارد نمایید. با کلیک کردن Apply منحنی مورد نظر رسم می‌گردد. در این حالت علامت کرسور + برای تعیین محدوده خطی بودن به صورت دستی ظاهر می‌شود که می‌توان ابتدا و انتهای این محدوده را به صورت دستی انتخاب نمود. در صورتی که تمامی داده‌ها دقیقا بر روی خط راست باشد نیازی به این عمل نبوده و کرسور مربوطه ظاهر نمی‌شود. سپس اطلاعات مربوطه را save نمایید.

درصورت نیاز به ویرایش می‌توان از کلمه Edit استفاده و اطلاعات را ویرایش نمود. در ردیف بالای این صفحه با کلیک بر روی style می‌توان رنگ و خط مورد نظر را انتخاب نمود. پس از آن با انتخاب کلمه پرینت صفحه‌ای حاوی اطلاعات فوق از جمله تولرانس، ماکزیمم خطای غیرخطی، مقادیر داده‌ها و محدوده قابل گزارش و منحنی مربوطه در اختیار کاربر قرار می‌گیرد.
برای اطلاعات بیشتر می‌توان از راهنمای این نرم‌افزار بهره جست.

محاسبه شاخص‌های آماری به روش دستی

برای بررسی میزان خطی بودن لازم است حداقل سه شاخص آماری را محاسبه نمود.
شیب منحنی یا Slope، فاصله از مبدا یا intercept و ضریب همبستگی یا r که از طریق فرمول‌های ذیل به‌دست می‌آیند:

$$\text{Slope of least square line: b} = \frac{\sum[(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sum(x_i - \bar{x})^2}$$

$$\text{Intercept of least square line: a} = \bar{\text{y}} - \text{b}\bar{\text{x}}$$

$$r = \frac{\sum[(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\{\sum(x_i - \bar{x})^2][\sum_i(y_i - \bar{y})^2]\}^{1/2}}$$

x_i= مقادیر مورد انتظار
y_i= مقادیر بدست آمده
$\bar{x}$= میانگین مقادیر مورد انتظار
$\bar{y}$= میانگین مقادیر بدست آمده

محاسبه ساده نتایج

در صورتی که به هیچ نرم‌افزار آماری دسترسی ندارید، می‌توانید مقدار مشاهده شده را بر جذب مورد انتظار تقسیم نمایید. معمولا نتیجه ۱±۰/۰۵ قابل قبول در نظر گرفته می‌شود. بدیهی است این روش مقدار عددی از شیب خط، عرض از مبدا و ضریب همبستگی در اختیار نمی‌گذارد، لذا به‌کارگیری آن در برنامه کنترل کیفی آزمایشگاه‌ها، گزینه مناسب و مورد پیشنهاد نمی‌باشد.

تفسیر نتایج

برای تفسیر نتایج به‌دست آمده، به موارد زیر توجه کنید:

- شیب خط (Slope) قابل قبول برابر ۱/۰±٪۵ می‌باشد.
- میزان عرض از مبداء (intercept یا constant) به‌طور مطلوب صفر و به‌عنوان پیشنهاد حداکثر ۰/۰۵± می‌باشد.
- r^2 خط باید بیش از ۰/۹۷۵ باشد.

۳- بررسی دقت Precision

جهت بررسی دقت دو روش پیشنهاد می‌شود:

الف: استفاده از محلول دی‌کرومات پتاسیم

جهت برسی دقت اتوآنالایزر می‌توان محلول دی‌کرومات پتاسیم را در سه غلظت پایین، میانی و بالا (مطابق با بخش بررسی خطی بودن) تهیه و پارامترهای لازم را به گونه‌ای تعریف کنید که بتوان با برداشت حجم‌های مختلف، رقت‌هایی با میزان جذب حدود ۰/۶-۰/۴ تهیه نمود. به عبارتی برای عملکرد بهتر در غلظت‌های پایین، حجم بیشتر و در غلظت‌های بالا حجم کمتری تعریف می‌شود. با این روش دقت سیستم در برداشت حجم‌های متفاوت مورد بررسی قرار می‌گیرد. این آزمون را بایستی حداقل ۲۰ بار برای هر محلول، به یکی از روش‌های زیر اجرا نمود:

۱- در ۲۰ روز و در هر روز ۱ خوانش

۲- در ۵ روز و در هر روز ۴ خوانش

۳- ۲۰ خوانش در یک روز

برای هر گروه از نتایج، میانگین، انحراف معیار و CV٪ محاسبه می‌گردد. CV پیشنهادی بایستی کمتر از ۱/۵٪ (و یا ادعای سازنده) می‌باشد.

توجه: نظر به این که یکنواختی محلول‌های اولیه نقش اساسی در تکرارپذیری نتایج دارد، قبل از اجرای این آزمون، بایستی با مخلوط کردن محلول‌های اولیه، از یکنواختی آنها اطمینان حاصل نمود.

ب : آزمایش مکرر یک آنالیت در یک سرم کنترل

بررسی دقت دستگاه اتوآنالایزر با آزمایش مکرر یک آنالیت در یک سرم کنترل امکان‌پذیر است. با توجه به اینکه نوع آنالیت مورد بررسی و نیز کیفیت معرف‌های مورد استفاده بر تکرارپذیری نتایج نقش اساسی دارد، باید نوع آزمایش و معرف را طوری انتخاب نمود که بتوان هرگونه عدم دقت را به دستگاه نسبت داد. به این منظور آزمایش یک آنالیت پایدار با استفاده از کیت‌هایی با پایداری و تکرارپذیری خوب، مورد توصیه می‌باشد.

برای این آزمون، یک آزمایش را در یک نمونه کنترلی و با استفاده از یک کیت با شماره ساخت ثابت، بیست بار در بیست دوره کاری (در صورت محدودیت زمانی، حداقل ۴ بار خوانش در پنج دوره کاری) اجرا و میانگین، انحراف معیار و CV این نتایج تعیین می‌گردد. عدم دقت محاسبه شده برحسب CV%، باید از عدم دقت مجاز برای آنالیت مورد نظر، کمتر باشد. در صورتی که نتیجه در محدوده مورد انتظار نباشد باید عوامل ایجاد خطای تصادفی (راندوم) را بررسی و آزمون را مجددا تکرار نمود.

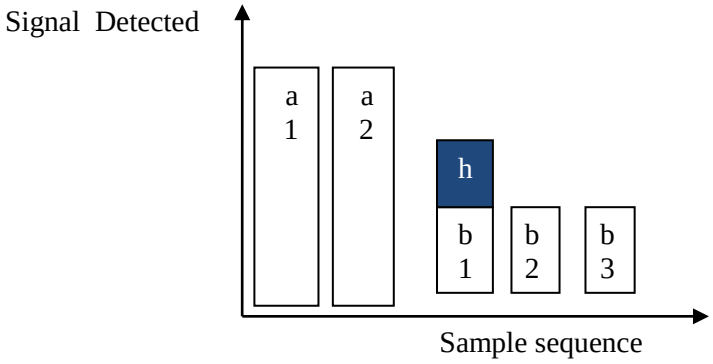
۴ـ آزمون Carry Over

Carry Over عموما برای توصیف فرآیندی استفاده می‌شود که در آن مواد وارد یک مخلوط واکنش می‌شوند که به آن‌ها تعلق ندارد. این مواد می‌تواند قسمتی از یک نمونه یا قسمتی از یک محلول مانند محلول رقیق کننده یا محلول شست‌وشو باشد. در دو حیطه می‌توان Carry Over را بررسی نمود که شامل تعیین Carry Over وابسته به نمونه و تعیین Carry Over غیر وابسته به نمونه می‌باشد. Carry Over را می‌توان به دو روش استفاده از محلول رنگی یا با استفاده از نمونه و معرف تعیین کرد.

الف) تعیین Carry Over با استفاده از محلول رنگی

برای بررسی Carry Over جذب یک محلول رنگی و نمونه آب مقطر به تناوب توسط دستگاه خوانش می‌گردد. برای این آزمون ابتدا دو بار جذب یک نمونه از محلول رنگی با میزان جذب ۱ تا ۱/۵ و به دنبال آن جذب ۳ نمونه آب مقطر با دستگاه بررسی می‌شود. به عنوان مثال می‌توان از محلول دی‌کرومات پتاسیم gr/dL ۰/۱۸ مطابق بند الف کنترل خطی بودن استفاده نمود. عمل خوانش حداقل ۱۰ بار تکرار شود. لازم به ذکر است که برای انجام این آزمون مشابه با بررسی خطی بودن، دستگاه باید در وضعیت فتومتریک قرار داشته باشد که در بخش‌های قبلی و راهنمای پیوستی توضیح داده شده است.

اگر نمونه‌های رنگی را با a1 و a2 و نمونه‌های آب را با b1,b2,b3 نمایش دهیم، در صورت وجود Carry Over بخشی از محلول رنگی به نمونه آب اول b1 انتقال می‌یابد که جذب این نمونه را به اندازه h افزایش می‌دهد (شکل ۷-۱)



شکل ۷-۱: جذب نوری نمونه‌های متوالی رنگی و آب

بنابراین با بررسی اختلاف جذب نمونه‌های آب و در نظر گرفتن میزان جذب محلول رنگی، می‌توان به وجود Carry Over پی برد. برای این‌که نقش احتمالات و خطای تصادفی حذف و معنی‌دار

بودن اختلاف موجود بین جذب نوری دو نمونه آب b3 و b1 تشخیص داده شود، میزان تفاوت با استفاده از SPSS و تست آماری Wilcoxon signed rank از مسیر زیر سنجیده می‌شود:

analyze>nonparametric>two related sample

در صورت معنی‌دار بودن این اختلاف با آزمون فوق در سطح آلفای ۵٪، می‌توان میزان درصد Carry Over را با استفاده از فرمول زیر محاسبه نمود:

$$\text{Carry Over } \% = \frac{\overline{b}\,1 - \overline{b3}}{\overline{b3}} \times 100$$

عدد به‌دست آمده از این فرمول با درصد Carry Over ادعا شده در کاتالوگ دستگاه مقایسه می‌گردد، اگر مقدار به دست آمده از این فرمول کمتر از عدد مورد ادعا در کاتالوگ دستگاه باشد، درصد Carry Over دستگاه قابل قبول ارزیابی می شود. در صورت تمایل و برای بررسی بیشتر می‌توان میزان اثر Carry Over (q) را از فرمول زیر با استفاده از آب مقطر و یک محلول رنگی با جذب نوری مشابه بند الف محاسبه نمود:

$$\mathrm{q} = \frac{\overline{b}\,1 - \overline{b3}}{\overline{\mathrm{a2}} - \overline{b3}}$$

ب) تعیین Carry Over با استفاده از نمونه و معرف

در این آزمون، Carry Over وابسته به نمونه (specimen dependent) و Carry Over غیر وابسته به نمونه (specimen independent) با استفاده از نمونه‌های انسانی یا تجاری به همراه معرف‌های معمول، بررسی می‌گردد.

۱- Carry Over از یک نمونه به نمونه دیگر

دو نمونه با غلظت خیلی بالا و پایین از یک آنالیت انتخاب می‌گردند. ابتدا یک نمونه با غلظت بالا (a1,a2) و بلافاصله سه نمونه با غلظت پایین سه بار (b1,b2,b3) آزمایش می‌شوند. در صورت وجود Carry Over مقداری از نمونه با غلظت بالا به اولین نمونه با غلظت پایین (b1) منتقل می‌گردد که غلظت آن را به میزان h (مشابه شکل ۷-۱) افزایش می‌دهد.

برای بررسی اثر Carry Over وابسته به نمونه، بهتر است توالی آزمایش‌ها، طوری انتخاب شود که ابتدا برای نمونه a آزمایشی با بیشترین حجم نمونه‌برداری درخواست و سپس بر روی نمونه b آزمایشی با کمترین حجم نمونه‌برداری انجام شود. به عنوان مثال اگر دستگاه برای آزمایش گلوکز ۱۰ میکرولیتر و برای آزمایش کراتینین ۵۰ میکرولیتر نمونه برمی‌دارد، بهتر است توالی نمونه‌ها طوری انتخاب شود که ابتدا نمونه شناخته شده با گلوکز خیلی بالا به عنوان (a)، دو بار از نظر کراتینین آزمایش شود و سپس نمونه b که گلوکز لب مرز دارد، برای تست گلوکز مورد آزمایش قرار گیرد (به این ترتیب بیشترین اثر یا درصد Carry Over به‌دست می‌آید.)

برای این‌که نقش احتمالات و خطای تصادفی حذف و معنی‌دار بودن اختلاف موجود بین جذب دو نمونه b3 و b1 تشخیص داده شود، بهتر است ۱۰ بار آزمایش فوق را تکرار کرد و میزان تفاوت بین میانگین نتایج دو زوج b3 و b1 را با استفاده از SPSS و تست آماری Wilcoxon signed rank از مسیر زیر سنجید:

analyze>nonparametric>two related sample

در صورت معنی‌دار بودن این اختلاف در سطح آلفای ۵٪، درصد Carry Over با محاسبه میانگین نتایج از ۱۰ بار b3 و b1 و با استفاده از فرمول زیر به‌دست می‌آید:

$$\text{Carry Over } \% = \frac{\bar{b}1 - \bar{b}3}{\bar{b}3}$$

برای مطالعه بیشتر، میزان اثر Carry Over از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$q = Carry\ Over \text{ اثر} = \frac{\bar{b}1 - \bar{b}3}{\bar{a}2 - \bar{b}3}$$

همان‌طور که در این فرمول مشاهده می‌شود اثر Carry Over با اختلاف غلظت بین دو نمونه‌ای که به‌صورت متوالی در سری (run) کاری آزمایش می‌شوند، رابطه معکوس دارد. از آن جا که تاثیر Carry Over بر روی نتیجه آزمایش بیش از مقدار خام جذب آن ارزش دارد بهتر است مقادیر نزدیک به سطح تصمیم‌گیری بالینی (upper and lower border of reference range) به‌عنوان نمونه b و مقادیر با غلظت بالا که ممکن است در نمونه‌های واقعی رخ دهد به عنوان a قرار داده شوند، مثلا ALT با غلظت ۲۰-۳۰IU/dL به جای b و مقادیر حدود ۲۰۰۰IU/dL به‌عنوان a در نظر گرفته شود. به علاوه بهتر است کاپ به اندازه ۲/۳ ظرفیت، از نمونه پر شود.

چنانچه بخواهیم بالاترین غلظتی که اثر carry over آن بر نمونه بعدی قابل قبول است (A) را تعیین کنیم، باید میانگین و انحراف معیار نتایج b3 را محاسبه نموده و پس از به‌دست آوردن میزان (Carry Over (q، حداکثر A´ را با استفاده از فرمول زیر به‌دست آوردیم:

$$A \text{ حداکثر} = \frac{2SD(1+q)}{q} + \overline{b3}$$

SD: b3 انحراف معیار نتایج

چنانچه در یک سری کاری، نمونه‌ای با غلظت بالاتر از A´ و به‌دنبال آن نمونه‌ای با غلظت حدود b قرار گرفته باشد، به علت اثر غیر دلخواه Carry Over باید آزمایش بر روی نمونه b تکرار شود.

۲- Carry Over غیر وابسته به نمونه:

Carry Over غیر وابسته به نمونه می‌تواند به‌علت تمیز کردن ناکافی کووت مشترک برای نمونه‌ها ایجاد گردد که خود در اثر آلودگی پروب انتقال معرف و یا آلودگی همزن (stirrer) ایجاد می‌گردد.

برای بررسی آلودگی ناشی از پروب معرف، مواردی که احتمال تداخل آنها بیشتر است مانند معرف‌های رنگی (به‌عنوان مثال آلبومین یا لیپاز) را با آنالیتی مانند تری‌گلیسیرید بررسی نمایید و یا از آزمایش‌هایی استفاده کنید که محصولات واکنش مشترکی مثلا تولید NADPH دارند. برای این آزمون نمونه‌هایی با غلظت حد واسط (مانند تری‌گلیسیرید ۴۰۰- ۲۰۰ میلی‌گرم دردسی‌لیتر) انتخاب می‌شوند.

توالی زیر برای این آزمون پیشنهاد می‌شود که در آن برای یک نمونه، دو آزمایش به دفعات درخواست می‌شود. آزمایش‌های مربوط به آنالیتی که احتمال می‌رود Carry Over معرف بر آن تاثیرگذار باشد با a و آزمایش‌های مربوط به آنالیتی که معرف آن باعث آلودگی می‌گردد با b, c, d و e نمایش داده شده است.

a1 , a2 , a3 , a4 , a5 , b , a6 , c , a7 , d , a8 , e , a9 , a10 , a11 , a12 , a13 , a14

به‌عنوان مثال برای یک نمونه ۱۴ بار و با توالی فوق آزمایش تری گلیسرید (با a1-a14 نمایش داده می‌شود) و چهار بار آزمایش آلبومین (با d, c, b و e نمایش داده می‌شود) درخواست می‌گردد.

برای محاسبه و تفسیر یافته‌ها ابتدا میانگین و انحراف معیار نتایج نمونه های a1-a5 و a10-a14 (۱۰نمونه) محاسبه می‌شود. اگر تفاوت هر کدام از نمونه‌های a6، a7، a8 یا a9 بیش از $\bar{a}$+2SD باشد تداخل معرف وجود دارد. لذا از کنار هم گذاشتن این دو آزمایش باید خودداری نمود.

بررسی Carry Over ناشی از همزن (stirrer)، چیدمان و محاسبات خاصی دارد که از حوصله این بخش خارج است و همکاران می‌توانند در صورت تمایل به مراجع ذکر شده در انتهای کتاب مراجعه نمایند.

- **راه‌های پیشگیری Carry Over**

۱- شست‌وشوی خودکار مسیر از شروع تا انتها و داخل فلوسل و پروب‌ها و سطوح داخلی و خارجی فیدل‌های نمونه‌برداری به میزان کافی و بعد از هر بار نمونه‌برداری

۲- افزایش و یا کاهش زمان و میزان شست‌وشوی پروب‌ها و مسیر و فلوسل

۳- شست‌وشوی فلوسل و مسیر با میزان زیادی از مخلوط سرم و معرف قبل از خوانش

۴- استفاده از جنس مرغوب تفلون و تیوب و سرنگ در سیستم‌های جدید و استفاده از مواد خاص جهت پوشش سطوح داخلی پروب‌ها در سیستم‌های قدیمی (مانند Traf)

۵- حذف حباب هوا و غبار و عوامل مزاحم مانند مو، کرک و نظیر آن از سیستم

۵ـ کنترل کیفی محل قرائت

محل قرائت در اتوآنالایزرها به دو قسمت تقسیم می‌شوند:

۱ـ کووت: که محل واکنش همان محل قرائت است.

۲ـ فلوسل: محلی برای قرائت آزمایش‌ها است. در این حالت، واکنش در کووت شروع شده و سپس محلول حاصل برای قرائت به فلوسل انتقال داده می‌شود.

***کنترل کیفی کووت:**

کووت‌های واکنش که در آن قرائت نیز صورت می‌گیرد از جنس Acrylic، P.V.C و یا کوارتز بوده که تعویض آن‌ها در فواصل مشخص و یا پس از رنگ گرفتن یا مخدوش شدن ضروری است.

*** روش شست‌وشوی کووت:**

۱) تخلیه کامل

۲) شست‌وشوی کامل با دترژانت رقیق اسیدی یا قلیایی

۳) شست‌وشوی کامل با آب مقطر یا دیونیزه

۴) خشک کردن با هوا یا پمپ خلاء

روش اجرا:

اگرچه شفافیت نوری (Optical Clearness) کووت‌ها در تمام اتوآنالایزرها به‌صورت اتوماتیک کنترل می‌شود ولی کنترل کیفیت آنها با ریختن آب مقطر در آن و قرائت جذب نوری ضروری است. حداکثر جذب نوری مجاز ۰/۰۲ می‌باشد.

***کنترل کیفی فلوسل**

کنترل کیفی فلوسل نیز با آب مقطر انجام می‌شود. در صورت کدورت شست‌وشوی اتوماتیک ۱۰ الی ۲۰ بار با اتانول ٪۲۰ و سپس ۲۰ بار شست‌وشو با آب مقطر پیشنهاد می‌گردد.

۶ـ کنترل کیفیت درجه حرارت

تنظیم دقیق و ثبات حرارت محفظه واکنش در یک دستگاه اتوآنالایزر موجب افزایش دقت و صحت در عملکرد سیستم می‌گردد. درجه حرارت دو بخش از سیستم نیاز به کنترل کیفیت دارد:

الف: کنترل دمای Incubator

ب) کنترل دمای Cooling Plate

روش اجرا:

کنترل دما به کمک یک ترمومتر دیجیتال دقیق صورت می‌پذیرد و حداکثر خطای مجاز برای انکوباتور ۱°C± و در Cooling Plate ۱°C± می‌باشد.

توجه شود که ابتدا دمای دماسنج را به نزدیک حرارت مورد نظر رسانده و سپس از آن استفاده شود. به دلیل اینکه دمای محلول‌ها ممکن است با ورود دماسنج تغییر کند. (برای این منظور می‌توان دماسنج را در یخچال که حدود ۴ درجه سانتی‌گراد خنک کرد و یا با استفاده از سشوار آن را حدود ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم نمود.

نظر به این‌که بررسی درجه حرارت سیستم توسط کاربر ممکن است دشوار و گاهی غیرقابل اجرا باشد، اجرای این بخش توسط شرکت پشتیبان توصیه می‌گردد.

۷ـ کنترل زمان واکنش

کنترل کیفیت زمان واکنش نیز به دلایلی که قبلا ذکر شد، بهتر است توسط شرکت پشتیبان انجام گردد. حداکثر خطای مجاز پیشنهادی ٪۵± می‌باشد.

۸- نکات مهم در خصوص کنترل کیفیت داخلی و استفاده از معرف و کیت‌ها، تعریف آزمون‌ها و کار با دستگاه

- آزمایشگاه‌ها موظف هستند اجرای کنترل داخلی کیفیت را مطابق با استانداردها تدوین و بر اجرای آن نظارت داشته باشند.

برای مطالعه بیشتر در این خصوص می‌توان به منابع معتبر مراجعه نمود.

- برای کالیبراسیون و کنترل داخلی کیفیت از کنترل و کالیبراتور همخوان با کیت استفاده نمایید.
- برنامه کنترل داخلی کیفیت را حتی‌الامکان با دو غلظت سرمی و طبق دستورالعمل مراجع معتبر اجرا و تفسیر نمایید.
- معرف‌های مربوط به کیت‌ها در ظروف پلاستیکی یا شیشه‌ای در دستگاه نگه‌داری می‌شوند که این ظرف‌ها دارای حجم‌های متغیر از ۱۰ الی ۱۰۰ میلی‌لیتر هستند. روش‌هایی که از یک معرف استفاده می‌کنند بهتر هستند ولی استفاده از روش‌هایی با ۲ یا ۳ معرف هم رواج دارد.
- در هنگام انتقال معرف‌ها به ظروف مربوطه، دقت شود که حباب هوا و کف در روی سطح محلول ایجاد نگردد زیرا سوزن نمونه‌برداری در ابتدا به جای برداشتن معرف، کف‌های روی آن را برداشت نموده و این موضوع موجب اختلال در واکنش‌های مربوط به چند نمونه اول می‌گردد.
- در دستگاه‌هایی که دارای سنسور سطح می‌باشند، سوزن مکش ابتدا سطح محلول‌ها را چک می‌کند و در صورت خالی بودن ظرف معرف پیغام Reagent Bottle Empty می‌دهد.
- معرف‌ها باید در دما و شرایط مورد نظر سازنده نگه‌داری شوند.
- پایداری محلول‌ها تا قبل از مخلوط شدن تا تاریخ مندرج بر روی بسته‌بندی بوده و چنانچه لازم باشد دو یا چند محلول مخلوط شوند (برای روش‌هایی که نیاز به ترکیب چند معرف دارند)، برای اطلاع از مدت پایداری محلول‌ها، باید زمان تهیه محلول و تاریخ انقضای آن را بر اساس دستورالعمل سازنده، روی ظرف درج نمود.

- کلیه معرف‌ها را ۲۰ دقیقه قبل از شروع کار در دمای اتاق قرار دهید.
- از معرف کدر یا تاریخ گذشته استفاده نکنید (وجود ته رنگ صورتی در برخی معرف‌ها طبیعی بوده و در نتایج تست بی تاثیر است).
- برخی تک معرف‌ها تک محلولی و برخی دو محلولی هستند. در صورت تهیه معرف کاری از دو محلول ابتدا آن‌ها را ۲۰ دقیقه در دمای اتاق قرار دهید تا آنزیم‌ها به‌حالت فعال در آیند و سپس معرف‌ها را با یکدیگر به خوبی ترکیب نمایید. در صورت تشکیل کف روی محلول حاصل لازم است قبل از استفاده از آن کف موجود با سمپلر برداشته شود.
- معرف‌ها را در ظروف مخصوص دستگاه که به‌خوبی شسته و با آب مقطر تازه آبکشی شده‌اند بریزید و از مخلوط کردن معرف تازه با کهنه خودداری کنید.
- HDL-C با دو متد رسوبی و مستقیم در دسترس است. بنابراین نتایج دو روش را با یکدیگر مقایسه نکنید.
- برای کیت‌های حساس به نور مثل بیلی‌روبین، لازم است سرم را بلافاصله از خون جدا کرده و ظرف ۲ ساعت آزمایش را انجام دهید (در فاصله جداسازی سرم و انجام تست لازم است سرم در یخچال و تاریکی قرار داده شود). جهت کالیبراسیون دستگاه از سرم کالیبراتور معتبر و تازه استفاده کنید. در صورت بالا بودن بیلی‌روبین سرم و یا وجود کدورت یا لیپمی از بلانک سرم برای کاهش خطا استفاده کنید.
- جهت آزمایش آنزیم‌های ALP,CKMB,CK,DH سرم را در دمای اتاق نگه داشته و حداکثر ظرف مدت یک روز آزمایش را انجام دهید. سرما سبب افت فعالیت برخی ایزو آنزیم‌ها می‌شود.

در بعضی از منابع از جمله سایت مایوکلینیک به پایداری سرم تا ۹۰ روز در فریزر اشاره شده است.

- برای تهیه رقت از دستورالعمل کیت مورد استفاده پیروی کنید. توجه نمایید که رقیق‌کردن گاهی سبب افزایش فعالیت آنزیم می‌شود لذا از حداقل رقت برای جواب گیری استفاده نمایید.
- آنزیم آلکالن فسفاتاز به مرور زمان دچار افزایش فعالیت می‌گردد لذا انجام آزمایش در اسرع وقت ضرورت دارد.
- جهت آزمایش کلسیم و آهن از ظروف نو یا شسته شده با اسید کلریدریک ۱/۱۰ نرمال استفاده کنید (مخلوط سولفوکرومیک و اسید نیتریک قادر به حل کردن املاح کلسیم نمی‌باشد). برای آبکشی از آب مقطر تازه و ترجیحا دیونیزه استفاده کنید.
- برای آزمایش آنالیت‌ها در ادرار آن را با رقت توصیه شده در بروشور تهیه کرده پس از اندازه‌گیری فاکتور رقت را در نتیجه ضرب کنید. از اضافه کردن مواد پایدارکننده خصوصا برای آنالیت‌هایی که معرف آنزیمی دارند جدا خودداری کنید. این مشکل در آزمایش کلسیم و کراتینین مطرح نیست.

- برای آزمایش مایع نخاع آن را سانتریفیوژ کنید.
- جداسازی سرم را در اسرع وقت انجام داده و حتی‌الامکان در همان روز آزمایش را انجام دهید.
- در غیر این‌صورت شرایط مورد نیاز برای نگه‌داری آنالیت‌های مورد بررسی مانند دمای نگه‌داری حساسیت به نور و مدت زمان پایداری نمونه در دمای مشخص را حتما مدنظر داشته باشید.
- برای نگه‌داری سرم‌های کنترل و کالیبراتور آن‌ها در فریزر ۲۰-۱۰ درجه زیر صفر بگذارید. اگر دمای فریزر به میزان کافی سرد نباشد، سبب افت فعالیت تدریجی بسیاری مواد مانند هورمون‌ها و آنزیم‌ها و بیلی‌روبین و غیره می‌شود.
- درصورت بروز کدورت در سرم فریز شده آن را با گرما یا صاف کردن شفاف نمایید. وجود ذرات نامحلول در سرم می‌تواند گرفتگی در مجاری دستگاه‌ها و مشکلات بعدی ایجاد کند.
- در صورت مشاهده هر نوع ایراد و اشکال معرف را دور نریزید و موضوع را به شرکت پشتیبان اطلاع دهید.
- کالیبره بودن پی‌پت‌ها، سمپلرها و دستگاه خوانش اعم از فتومتر یا دستگاه‌های اتوآنالایزر تمام اتوماتیک، در دقت و صحت جواب‌ها بسیار تاثیرگذار می‌باشد.
- در صورت انجام روش‌های دستی یا نیمه اتوماتیک باید دقت شود دمای انکوباسیون دقیقا در روی ۳۷ درجه سانتی‌گراد تنظیم باشد. نورهای مداخله‌گر محیطی، تغییرات دمایی و تغییرات زمانی و حتی تغییر کاربر در نتیجه حاصله دخالت مستقیم دارند.
- در صورت کار با محلول‌هایی که حاوی دو معرف (Reagent) هستند، رعایت نسبت دقیق محلول‌ها برای تهیه محلول آماده به کار (working reagent) ضروری است.
- حتی‌المقدور از تغییر اعداد، ضرایب و پارامترهای ارایه شده توسط تولید کننده که در بروشور کیت توصیه شده اجتناب نموده و در صورت بروز مشکل با بخش کنترل کیفی شرکت پشتیبان تماس گرفته شود.
- به هنگام ثبت پارامترهای کیت در دستگاه، باید دقت شود تا اشتباهی صورت نپذیرد زیرا اکثر تعاریف بوسیله کدها و اعداد بوده و یک اشتباه کوچک در ثبت کد یا عدد مربوطه می‌تواند نتیجه آزمایش را دچار اشکال کند.
- هرگز از کنترل و کالیبراتور به‌عنوان جایگزین یکدیگر استفاده ننمایید (کالیبراتور ماده‌ای است با غلظت مشخص که برای کالیبراسیون تست‌های آزمایشگاهی استفاده می‌شود، در حالی که کنترل ماده‌ای است با محدوده غلظتی مشخص که برای کنترل کیفیت تست‌های آزمایشگاهی استفاده می‌شود).
- در به حجم رساندن مواد کنترلی و کالیبراتورهای لیوفیلیزه نهایت دقت را به‌عمل آورده و از وسایل حجمی دقیق و کالیبره استفاده نمایید.

- برای به‌دست آوردن حداکثر دقت با رعایت نکات زیر ترتیب قرائت آزمایش‌ها را در دستگاه به شرح ذیل قرار دهید:
  - آزمایش‌هایی با محلول‌های شدیدا اسیدی و یا شدیدا قلیایی را از سایر آزمایش‌ها جدا نمایید.
  - آزمایش‌های ایمونوتوربیدومتری را از سایر آزمایش‌ها جدا نمایید.
  - آزمایش‌های با اصول واکنش شبیه هم را در کنار هم قرار دهید.

ترتیب پیشنهادی جهت انجام آزمایش‌ها در یک اتوآنالایزر بیوشیمی به این شرح می‌باشد:
AST, ALT, CK, LDH, Urea, Amy, Phos, GGT, ALP, TG, UA, HDL, LDL, GLU, CHOL, CK-MB, TP, Urine Pro, Ca, Mg, Cl, Alb, Crea, DBILL,TBILL, Fe

ایمنی

- درهنگام کار با دستگاه نباید به سینی‌های محلول و نمونه دست زد چون احتمال برخورد دست با پروب‌های دستگاه وجود دارد.
- دستگاه در محیط خشک و بدون ارتعاش و نویزهای (Noises) الکتریکی و الکترومغناطیسی و دور از گرد خاک قرار گرفته و بعد از کار همیشه تمیز گردد.
- دقت نمایید که دستگاه در معرض جریان هوای شدید نظیر باد کولر یا پنجره باز قرار نگیرد.
- به منظور جلوگیری از آسیب رساندن به دستگاه و نرم‌افزار آن، از نصب هرگونه نرم‌افزار غیر ضروری و یا کپی کردن هر نوع قابل بر روی رایانه دستگاه خودداری شود.
- به منظور پیشگیری از اثرات نوسانات جریان الکتریکی لازم است که:
  - دستگاه به سیستم تثبیت کننده ولتاژ برق (Voltage Regulator) یا سیستم تامین کننده برق اضطراری (UPS) که دارای تثبیت کننده ولتاژ داخلی می‌باشد، متصل باشد.
  - سیستم برق دستگاه باید دارای سیم اتصال به زمین مناسب باشد.

راهنمای تعریف پارامترهای پیشنهادی برخی از انواع اتوآنالایزرها جهت آزمون خطی بودن و بررسی دقت

تعریف پارامترها روی هیتاچی ۹۱۲، ۹۱۷ و ۷۱۷

- هیتاچی ۹۱۲

جهت تعریف پارامترهای تست خطی بودن روی دستگاه هیتاچی۹۱۲ نیاز به ۷ جایگاه جهت تعریف پارامترهای مورد نظر می‌باشد. این جایگاه‌ها به ترتیب به نام های QC-1 تا QC-۷ تعریف می‌کنیم. برای مثال جایگاه QC-1 به صورت زیر تعریف می‌شود.

Analyze :

Select test	QC – 1	Analyzer/ cycle /time	10 sec	00001		99
Test name	QC – 1	Assay / time/ point	1 point	10	15	0 0 0

APP.Code ☒ wavelength 0 – 340

Sample volume			Reagent
Norl	2	0 0 0 0	R1 = 248
Decrease	0	0 0 0 0	R2 = 0
Increase	0	0 0 0 0	R3 = 0
			R4 = 0

Calibration :

Select /test QC – 1	
Calibration type linear	SD Limit 999.9
Point : 1	Duplicate limit 99% 32000
Weight : 0	sensitivity range -99999 + 999999
Span point : 0	S1 Abs range -32000 - 32000

Range :

در این قسمت تمام پیش فرض‌های دستگاه بدون تغییر قرار داده می‌شوند، فقط نام تست آزمون به‌صورت QC–1 وارد می‌شود.

Others :

Standard	1	2	3	4	5	6
	☒	☐	☐	☐	☐	☐
Concentrate	0.0	0	0	0	0	0
Position	☒	0	0	0	0	0

Sample volume

40	0	0	0	0	0	0
0	0					
1	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	0	

توجه : قسمت‌هایی که با علامت ☒ مشخص شده‌اند، توسط اپراتور معین می‌گردند.

در جایگاه بعدی تست QC–2 تعریف می‌شود که تمام پارامترها شبیه QC–1 می‌باشد، فقط مقادیر نمونه (Sample) و معرف (Reagent) متفاوت هستند. مقادیر نمونه و معرف تمام تست‌ها QC–1 تا QC–7 به شرح ذیل پیشنهاد می‌شوند:

نام آزمون	مقدار نمونه (برحسب µl)	مقدار معرف (برحسب µl)
QC-1	۲	۲۴۸
QC-2	۵	۲۴۵
QC-3	۸	۲۴۲
QC-4	۱۱	۲۳۹
QC-5	۱۴	۲۳۶
QC-6	۱۷	۲۳۳
QC-7	۲۰	۲۳۰

مقدار حجم نمونه متناسب با حجم نمونه‌برداری از سرم بیماران و حجم معرف متناسب با حجم‌برداری از معرف‌ها در حالت کاربردی دستگاه انتخاب می‌شود.

توجه: بهتر است تمام ۷ حالت فوق روی دستگاه برنامه داده شود و تست خطی بودن با ۷ مقدار نمونه-برداری انجام گیرد ولی در صورتی‌که آزمایشگاهی در این خصوص دارای مشکل جایگاه خالی جهت برنامه دادن تست‌ها باشد، حداقل باید از ۳ آزمون و ترجیحا QC–1 و QC–3 و QC–6 استفاده شود.

پس از تعریف پارامترهای مورد نظر جایگاه معرف‌ها را روی دستگاه مشخص می‌کنیم. پس از تعریف ۷ جایگاه فوق در ظرف‌های معرف بجای معرف از اسید پرکلریک 0.001M و یا اسید سولفوریک 0.005M قرارداده و ظرف‌های معرف را در جایگاه خود قرار دهید. به‌جای نمونه از محلول دی‌کرومات پتاسیم ۰/۱۸gr/dl استفاده کنید. سپس به مقدار ۱۰ بار عمل خوانش را برای این نمونه‌ها انجام دهید (برای تمامی آزمون‌های QC–1 تا QC–7). برای هر آزمون (هر رقت) ۱۰ تا OD به‌دست می‌آید که مجموعا ۷۰ OD به‌دست می‌آید.

توجه: قبل از این‌که آزمون‌ها RUN شوند، باید در جایگاه st1 در سینی نمونه، کاپ حاوی آب مقطر قرار داده و در تست کالیبراسیون برای هر ۷ نمونه، blank را نشان‌دار کرده و فرمان کالیبراسیون را اجرا می‌کنید.

ODهای حاصل از نمونه‌ای که OD آن بین ۰/۴ تا ۰/۶ است را به‌عنوان شاخص یا مبنا در نظر گرفته و مقادیر مورد انتظار، مشابه محاسبات مندرج در صفحه ۱۵۱ از فرمول زیر به‌دست می‌آید:

حجم نمونه مبنا / جذب نوری مبنا × حجم نمونه = مقدار جذب نوری نمونه مورد انتظار

- هیتاچی ۹۱۷

در دستگاه هیتاچی ۹۱۷ تمام مراحل شبیه به هیتاچی ۹۱۲ می‌باشد. با این تفاوت که برای تعریف پارامترها از جایگاه‌های آزاد دستگاه که شامل ۷ جایگاه می‌باشد از QC-1 تا QC-7 استفاده می‌شود. مقادیر برداشت نمونه و معرف به شرح زیر پیشنهاد می‌شود:

نام آزمون	مقدار نمونه (برحسب µl)	مقدار معرف (برحسب µl)
QC-1	۲	۲۴۸
QC-2	۵	۲۴۵
QC-3	۸	۲۴۲
QC-4	۱۱	۲۳۹
QC-5	۱۴	۲۳۶
QC-6	۱۷	۲۳۳
QC-7	۲۰	۲۳۰

- هیتاچی ۷۱۷

در دستگاه هیتاچی ۷۱۷ در 7 جایگاه 7 تست به شرح زیر تعریف می‌شود.

Assay cod= (1 point)- (2) (0)
Sample volum= (x)
R1 volum = (x) (50) (No)
R2= (0) (20) (No)
Wave length= (0) (340)
Caliber method= linear 0 0
St1= 0 1
St2= 100 2

به همین ترتیب

SD limit 999,9
Duplicate limit 500
Sensitivity line 32000
Abs limit 0 increase
Prozo limit 0 lower

به جای معرف R1 از آب مقطر که یک قطره اکسترانت رقیق در آن ریخته می‌شود استفاده می‌شود. مقدار R1 volum و مقدار حجمی که از دی کرومات پتاسیم توسط دستگاه برداشته می‌شود برای آزمون‌های QC-1 تا QC-7 به‌صورت زیر تعریف می‌شود:

نام آزمون	مقدار نمونه (برحسب µl)	مقدار معرف (برحسب µl)
QC-1	۲	۲۴۸
QC-2	۵	۲۴۵
QC-3	۸	۲۴۲
QC-4	۱۱	۲۳۹
QC-5	۱۴	۲۳۶
QC-6	۱۷	۲۳۳
QC-7	۲۰	۲۳۰

در قسمت روتین ۵ (standard condition) گزینه مربوط به original ABS که شامل قرائت جذب می‌باشد را yes می‌کنیم تا دستگاه به جای غلظت، OD را نشان دهد. در روتین ۲ تست‌های تعریف شده روی دی کرومات پتاسیم انجام می‌شود.

تعریف پارامترها روی دستگاه BT3000

جهت تعریف پارامترهای تست خطی بودن روی دستگاه BT3000 نیاز به ۷ جایگاه جهت تعریف پارامترهای مورد نظر می‌باشد. این جایگاه‌ها را به ترتیب به نام‌های QC-1 تا QC-7 تعریف می‌کنیم.

Test methodology:	QC-1
Method	End Point
Kind of process:	Linear
Filters:	340/no
Reaction direction:	Increasing
Reagent#1 :	248µl
Sample starter:	Inactive
Delay time (Sec):	0
Incubation time (Sec):	60
Reading time (Sec):	10
Unit serum:	MG/DL
Unit urine:	
Number of needle washes:	2
Number of cuvette washes:	1

Dynamic Blank:	Inactive
Reagent Blank:	Every day
Reagent limit (Mabs):	2000
Curve Acceptance (%):	100

- Serum –

Name:	
Sample µl:	2
Pre-Dilution:	No

Dilution:

Factor:	2
Test limit (Conc):	1000
Max ABS Delta (mABS):	2000
Check prozone:	Inactive
Instrument factor:	1
Shift:	0
Re-run hyperactive:	Active
Re-run pathological:	Inactive

Normal range:

Male:	
Female:	
Child:	

- Urine -

Name:	
Sample µl:	2
Pre-Dilution:	No

Dilution:

Factor:	1
Test limit (Conc):	0
Max ABS Delta (mABS):	2000
Check Prozone:	Inactive
Instrument factor:	1
Shift:	0
Re-run hyperactive:	Inactive
Re-run pathological:	Inactive

Normal range:

Male:	0/0
Female:	0/0
Child:	0/0

در جایگاه بعدی تست QC–2 تعریف می‌شود که تمام پارامترها شبیه QC–1 می‌باشد، فقط در مقدار نمونه و معرف متفاوت هستند و به‌طور کلی برای تمام آزمون‌های QC–1 تا QC–7 مقادیر برداشت نمونه و معرف به صورت زیر پیشنهاد می‌شود:

نام آزمون	مقدار نمونه (برحسب µl)	مقدار معرف (برحسب µl)
QC-1	۲	۲۴۸
QC-2	۵	۲۴۵
QC-3	۸	۲۴۲
QC-4	۱۱	۲۳۹
QC-5	۱۴	۲۳۶
QC-6	۱۷	۲۳۳
QC-7	۲۰	۲۳۰

تعریف پارامترها روی دستگاه Selectra E

جهت تعریف پارامترهای تست خطی بودن روی دستگاه Selectra E نیاز به ۷ جایگاه جهت تعریف پارامترهای مورد نظر می‌باشد. این جایگاه‌ها را به ترتیب با نام‌هایQC-1 تا QC-7 تعریف می‌کنیم.

Instrument settings
QC-1 Liquicolor

Name	QC-1
Abbr. Name	QC-1
Mode	End Point
Wavelength	340 nm
Units	mg/dl
Decimals	0
Low Conc.	0
High Conc.	1000
Calibrator Name	#
Repeat	1
Number	1
Concentration	#
Interval	0 days
(CUT OFF)	(no)
Prozone check	NO
Ref. Male Low	0
Ref. Male High	0
Ref. Female Low	0
Ref. Female High	0
Correlat. Factor	1
Correlat. Offset	0

Mono mode	
Sample blank	NO
R1 bottle	25 ml
Normal Volume	248 µl
Rerun Volume	248 µl
Sample blank	
Normal Volume	2 µl
Rerun Volume	2 µl
Incubation time	4.5 min
Low absorbance	-0.1
High absorbance	3
R.Abs.L.Limit	-0.1
R.Abs.H.Limit	3
Reagent Blank	YES
Cal.Low Limit	0.0 Abs
Cal. Hight Limit	0.0 Abs
Factor	1

در جایگاه‌های بعدی آزمون‌های QC–1 تا QC–7 تعریف می‌شوند که تمام پارامترها شبیه QC–1 می‌باشد، فقط مقادیر نمونه و معرف آن‌ها متفاوت هستند. مقادیر نمونه و معرف در تمام آزمون‌های QC–1 تا QC–7 به صورت زیر تعریف می‌شوند:

نام آزمون	مقدار نمونه (برحسب µl)	مقدار معرف (برحسب µl)
QC-1	۲	۲۴۸
QC-2	۵	۲۴۵
QC-3	۸	۲۴۲
QC-4	۱۱	۲۳۹
QC-5	۱۴	۲۳۶
QC-6	۱۷	۲۳۳
QC-7	۲۰	۲۳۰

تعریف پارامترها روی دستگاه SINNOWA سری D

جهت تعریف پارامترهای تست خطی بودن روی دستگاه SINNOWA D Series نیاز به ۷ جایگاه جهت تعریف پارامترهای مورد نظر می‌باشد. این جایگاه‌ها را به ترتیب به نام‌های QC-1 تا QC-7 تعریف می‌کنیم به شرح ذیل:

Item:	QC-1	
Full Name:	QC-1	
Test method:	END POINT	
Filter:	340 nm	
Decimal:	X.XXX	
Unit:	mg/dl	
Sub Filter:	None	
High Pollute:	Not Select	
Blank medium:	Reagent	
Blank value:	0	
Blank Low:	0	
Blank High:	3	
Sample volume:	2 µl	
Reagent1: volume:	248 µl	
Reagent2: volume:	0 µl	
Linearity:	5	
Assistant:	Start: None	End: None
Test point:	Start: 20	End: 20
Range	Low: -5	High: +5
Number of Standard: 1		

Factor: 1
Standard1 Cup: 1
Conc: 1

در جایگاه‌های بعدی آزمون‌های QC-2 تا QC-7 تعریف می‌شوند که تمام پارامترها شبیه QC-1 بوده و فقط مقادیر نمونه و معرف در آن‌ها متفاوت می‌باشند. مقادیر نمونه و معرف در تمام آزمون‌های QC-1 تا QC-7 به صورت زیر تعریف می‌شوند:

نام آزمون	مقدار نمونه (برحسب µl)	مقدار معرف (برحسب µl)
QC-1	۲	۲۴۸
QC-2	۵	۲۴۵
QC-3	۸	۲۴۲
QC-4	۱۱	۲۳۹
QC-5	۱۴	۲۳۶
QC-6	۱۷	۲۳۳
QC-7	۲۰	۲۳۰

دستورالعمل فنی دستگاه‌های شمارنده پرتوهای گاما و بتا

کلیات

دستگاه‌های شمارنده پرتوها، میزان پرتوزایی (اکتیویته) یک چشمه پرتوزا را اندازه‌گیری می‌کنند. این دستگاه‌ها دارای بخش‌های مختلفی از قبیل آشکارساز، قسمت الکترونیکی و شمارنده (Counter) هستند که هر کدام به‌طور جداگانه شرح داده می‌شوند.

در اغلب شمارنده‌های گاما یا بتای مورد استفاده در پزشکی هسته‌ای از یک آشکارساز سنتیلاتور استفاده می‌شود. آشکارسازهای سنتیلاتور وقتی در معرض تابش پرتوزا قرار می‌گیرند از خود نور مرئی گسیل می‌کنند و چون این نور مرئی به صورت جرقه مشاهده می‌شود، آن‌ها را مواد جرقه زن یا سنتیلاتور می‌نامند. این پدیده از زمان‌های خیلی پیش مشاهده شده بود ولی از آنجا که اندازه‌گیری نور مرئی با شدت پایین که از این مواد گسیل می‌شد تقریبا غیرممکن بود، لذا به این روش اندازه‌گیری توجه نمی‌شد تا این که بعد از پیدایش لوله فوتومولتی‌پلایر (Photomultiplier tubes) توانستند این دو وسیله را تواما استفاده نمایند. اکنون ترکیب این دو وسیله عمده‌ترین دستگاه اندازه‌گیری تابش پرتوزا در آزمایشگاه‌های پزشکی هسته‌ای می‌باشند.

تعداد قابل توجهی از مواد دارای خاصیت جرقه زنی هستند ولی آنهایی که به عنوان سنتیلاتور در اندازه‌گیری پرتوها به‌کار می‌روند باید دو ویژگی زیر را داشته باشند:

۱- شفاف باشند.

۲- پرتوها را به راحتی جذب کنند.

به دلیل همین دو ویژگی است که نمی‌توان از تمام مواد سنتیلاتور در پزشکی هسته‌ای استفاده کرد، زیرا موادی با عدد اتمی بیش‌تر که پرتوها را به راحتی جذب می‌کنند، اکثرا شفاف نیستند و در نتیجه باید به صورت لایه‌های نازک مورد استفاده قرار بگیرند که در این صورت پرتوهای گاما به‌ویژه گاماهای با انرژی بالا به راحتی از آن عبور کرده و جذب نمی‌شود.

با این شرایط فقط چند ماده سنتیلاتور وجود دارد که برای اندازه‌گیری پرتوها مناسب است، که از آن جمله می‌توان به کریستال‌های آنتراسین؛ نفتالین؛ یدور پتاسیم و یدور سدیم اشاره کرد. در این میان یدور سدیم بیش از سایر مواد در پزشکی هسته‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد. سنتیلاتور مایع به ویژه در شمردن نمونه‌هایی که پرتوی بتای کم انرژی گسیل می‌کنند مورد استفاده قرار می‌گیرد.

همه شمارنده‌های گاما از یک سامانه اندازه‌گیری و شمارش گاما با آشکارساز سنتیلاتور NaI (TL) استفاده می‌کنند. در اطراف کریستال NaI (TL) دیواره‌های سربی و یک سوراخ

(Hole) تعبیه شده است. نمونه‌ای که باید اندازه‌گیری میزان پرتوزایی در مورد آن انجام گیرد، در وسط دیواره و جلوی سوراخ قرار می‌گیرد.

پرتوهای گسیل شده از نمونه به کریستال سنتیلاتور برخورد کرده و ایجاد جرقه‌های نورانی می‌کند.

این جرقه‌های نورانی توسط یک تیوب فوتومولتی پلایر به پالس الکتریکی تبدیل می‌شود و سپس توسط دستگاه اندازه‌گیری، تعداد این پالس‌ها و هم‌چنین دامنه آن‌ها ثبت و ذخیره‌سازی می‌گردد.

در طیف چشمه سزیم ۱۳۷ پیک بزرگ جذبی، نشان دهنده جذب همه انرژی گامای گسیل شده توسط سزیم ۱۳۷ در داخل کریستال NaI (TL) است. این یک برخورد فوتوپیک است. پیک کوچک لبه برخورد کامپتون که برخوردی از نوع پراکندگی است را نشان می‌دهد. عرض پیک فوتوپیک نشان دهنده توانایی آشکارساز در تشخیص پرتوهایی با انرژی متفاوت است و بستگی به مشخصات آماری و مشخصات کریستال دارد. این پارامتر را به صورت (درصد پهنای کامل در نیمه ماکزیمم) %FWHM (Percentage Full Width at Half Maximum) در انرژی ۶۶۲ کیلو الکترون ولت (انرژی گاما) کمی سازی می‌کنند.

تعدادی از شمارنده‌ها براساس شمارش بر روی پیک جذبی عمل می‌کنند. در بعضی موارد به صورت شمارش پیک به کل شمارش (Peak to Total Ratio) کمی سازی صورت می‌گیرد. این مقدار با افزایش و بزرگ شدن ابعاد کریستال بیشتر خواهد شد. پارامتر حساسیت آشکار ساز سنتیلاتور NaI (TL) در آزمایش‌های In Vitro بستگی به ابعاد کریستال دارد. حساسیت در آشکار سازی را می‌توان به صورت زیر تعریف نمود:

$$\text{حساسیت} = \frac{\text{تعداد کل شمارش (C/S)}}{\text{پرتوزایی اولیه (Bq)}}$$

برای انرژی‌های متوسط گاما از کریستال Well-Type با قطر ۴۵ میلی‌متر و ابعاد دیواره با قطر ۱۶ میلی‌متر استفاده می‌شود. برای انرژی‌های بالاتر، ابعاد بزرگتر کریستال مورد استفاده قرار می‌گیرد.

کریستال NaI (TL) باید در داخل یک پوشش محافظت گردد. این پوشش معمولا از نوع آلومینیوم است. هم‌چنین در اطراف کریستال حفاظ سربی قرار می‌گیرد تا اثرات پرتوهای محیطی را کاهش دهد.

ساختمان شمارش‌گر سنتیلاتور مایع نیز همانند سنتیلاتور معمولی است با این تفاوت که ماده حساس آن از یک مایع سنتیلاتور تشکیل می‌شود. برای جلوگیری از پدیده خود جذبی، نمونه‌های گسیل کننده ذرات کم انرژی را ابتدا به شکل مایع در آورده و سپس با مایع سنتیلاتور مخلوط می‌کنند. سپس ظرف محتوی نمونه پرتوزا و مایع سنتیلاتور را به عنوان ماده حساس آشکارساز در

مجاورت لوله فوتومولتی‌پلایر قرار می‌دهند. دور تا دور نمونه مخلوط شده با سنتیلاتور را از ماده‌ای که منعکس کننده نور است می‌پوشانند تا نور بیشتری به فوتومولتی‌پلایر برسد. از آنجایی که امکان دارد جرقه‌های نورانی در نویز محیطی مخدوش گردد باید مخلوط سنتیلاتـور و نمونه را سـرد نمود که بدین منظور از یـک سیستم سرد کننده آبی یا مایع استفاده می‌شود. این سیستم سرد کننده برای کاهش دما تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد مناسب است. در بعضی از آزمایش‌ها، پالس نورانی گسیل شده از سنتیلاتور دارای دامنه ضعیفی است که این کاهش دما مناسب نبوده و باید آن را تا زیر صفر درجه سرد نمود. در سیستم‌های اندازه‌گیری جدید از دو فوتومولتی‌پلایر استفاده می‌شود که با بررسی وضعیت هم زمانی پالس‌های آن، اثر نویز کاهش می‌یابد. در این نوع شمارنده بتا احتیاج به سیستم خنک کننده نیست.

خواص سنتیلاتور مایع عبارت است از:

۱- بازده کافی برای تولید نور داشته و طول موج نوری که از آن تولید می‌شود باید در محدوده حساسیت نوری فوتومولتی‌پلایر باشد.

۲- در درجه حرارت معمولی در داخل حلال به خوبی حل شود.

۳- ثبات شیمیایی داشته باشد.

۴- از نظر اقتصادی مقرون به صرفه باشد.

بر روی آشکار ساز یا فوتومولتی‌پلایر صفحه قابل تعویض قرار می‌گیرد تا در صورت بروز آلودگی، کریستال یا فوتومولتی‌پلایر آلوده نگردند.

بخش‌های دیگر یک شمارنده گاما یا بتا عبارتند از:

۱- بخش تقویت کننده

۲- بخش تحلیلگر ریاضی و تحلیل ارتفاع پالس

۳- بخش ثبت شمارش‌ها و هم‌چنین زمان سنج

کار بخش تقویت‌کننده، تقویت پالس، اصلاح فرم و شکل پالس و تنظیم امپدانس تقویت‌کننده با در نظر گرفتن محدوده انرژی کیت پرتوزای مورد استفاده است. بخش اندازه‌گیری ارتفاع پالس، با در نظر گرفتن دامنه ولتاژی پـالس رسیده و در ارتفاع مجـاز قـابل عبور، اجازه ثبت شمارش را می‌دهد.

در بخش ثبت شمارش‌ها نیز تعداد پالس‌های رسیده در مدت زمان مشخص ثبت می‌گردد.

کنترل کیفی

هنگام به‌کارگیری شمارنده‌ها در موارد تشخیصی In Vitro باید از وضعیت کاری این دستگاه‌ها اطمینان حاصل شود. این اطمینان با انجام آزمایش‌های کنترل کیفی به‌دست می‌آید. کنترل

کیفیت در آزمایشگاه هورمون‌شناسی تعریف کردن پارامترهای مختلفی است که می‌توان آن‌ها را اندازه گرفت و با بررسی نتایج این اندازه‌گیری می‌توان عملکرد صحیح در آزمایشگاه هورمون‌شناسی را کنترل نمود. این مسئله بدین معناست که هنگام اندازه‌گیری مرسوم در آزمایشگاه به این اندازه‌گیری‌ها اطمینان پیدا کرده و در نهایت تشخیص درست داده شود.

در جدول شماره ۲۸-۱ فهرست آزمون‌های کنترل کیفی و دوره زمانی انجام آن‌ها آورده شده است. کلیه اقدامات مندرج در این جدول می‌توانند توسط شرکت پشتیبان انجام شده و حفظ نتایج توسط آزمایشگاه کفایت می‌نماید.

جدول ۲۸-۱: دوره زمانی انجام آزمون‌های کنترل کیفی در شمارنده‌های گاما و بتا

شماره آزمایش	آزمایش	اولیه	دوره‌ای		
			هفتگی	فصلی	نیمسال
۱	بازرسی فیزیکی	❊			
۲	آزمون Scaler-Timer ♣	❊	❊		
۳	آزمون کالیبراسیون انرژی♣	❊	❊		
۴	آزمون قدرت تفکیک انرژی	❊			❊
۵	آزمون حساسیت♣	❊	❊		
۶	آزمون صحت شمارش	❊		❊	
۷	آزمون خطی بودن انرژی	❊			❊
۸	آزمون خطی بودن پرتوزایی	❊			❊
۹	آزمون عملکرد کلی	❊			❊

♣ با توجه به اینکه این آزمون‌های معمولا توسط شرکت پشتیبان انجام می‌گیرد، در صورت عدم امکان انجام هفتگی آن‌ها با اغماض می‌توان هر سه ماه یکبار این آزمون‌ها را انجام داد.

- **بازرسی فیزیکی**

در این آزمون وضعیت عمومی شمارنده، کلیه کلیدها و پیچ‌های تنظیم، اتصالات، وضعیت آشکارسازی و موارد مشابه دیگر مورد بررسی قرار می‌گیرد.

- **آزمون Scaler-Timer**

در این آزمون وضعیت بخش ثبت شمارش و زمان‌سنج مورد بررسی قرار می‌گیرد.

نحوه انجام آزمون بدین صورت است که با اتصال یک سیگنال ژنراتور با بخش الکترونیک و فرستادن پالس‌هایی با دامنه‌های متفاوت و فرکانس مشخص، میزان شمارش اندازه‌گیری می‌گردد.

- **آزمون کالیبراسیون انرژی**

با استفاده از یک چشمه نقطه‌ای کالیبره شده مثل سزیم ۱۳۷ با پرتو گامای مشخص (۶۶۲ کیلو الکترون ولت) و بررسی ارتفاع پالس آن، رابطه ارتفاع پالس با انرژی گامای فرودی مشخص و کالیبره می‌گردد.

- **آزمون قدرت تفکیک انرژی**

با تنظیم پنجره PHA در انرژی‌های مختلف و رسم کردن پیک جذبی، عرض پیک به صورت FWHM (Full Width at Half Maximum) اندازه‌گیری شده و گزارش می‌گردد.

- **آزمون حساسیت**

با تنظیم پنجره PHA بر روی مقدار ۲۰ درصد، پرتوزایی یک چشمه نقطه‌ای کالیبره شده را تعیین و سپس حساسیت، به صورت زیر محاسبه می‌شود:

$$\text{حساسیت} = \frac{\text{شمارش انجام شده}\ (C/S)}{\text{پرتوزایی چشمه کالیبره شده}\ (Bq)}$$

- **آزمون صحت جدول شمارش (آزمایش $\chi 2$)**

در جدول ۲۹-۱ مقادیر ۱۰ بار شمارش مربوط به یک لوله ثبت می‌گردد. در این جدول میزان میانگین شمارش به صورت $\bar{C}$ و شمارش در هر مرتبه C_i (مرتبه / ام) نامیده می‌شود.

جدول ۲۹-۱: برگه ثبت شمارش‌ها در آزمون صحت شمارش

مرتبه شمارش	شمارش C_i	$(Ci-\bar{C})$ Type equation here.	$(C_i-\bar{C})^2$
۱			
۲			
۳			
۴			
۵			
۶			
۷			
۸			
۹			
۱۰			

$$\bar{C} = \frac{\sum C_i}{10} \qquad \chi 2 = \frac{\sum (C_i - \bar{C})^2}{\bar{C}}$$

اگر $\chi 2$ بین مقادیر ۳/۳۲ و ۱۶/۹۲ باشد دستگاه تنظیم است و در غیر این صورت دستگاه از تنظیم خارج است.

- **آزمون خطی بودن انرژی**

در این آزمون از دو چشمه با انرژی‌های متفاوت استفاده می‌شود (مثلا سزیم ۱۳۷ و یُد ۱۲۵).
با در نظر گرفتن پرتوهای گامای گسیل شده از این دو چشمه خطی بودن پاسخ دستگاه شمارنده کنترل می‌گردد.

- **آزمون خطی بودن پرتوزایی**

در این آزمون یک چشمه یُد ۱۲۵ را در یک محلول با حجم مشخص حل کنید و آن را در حجم یک سی‌سی مورد شمارش قرار دهید. سپس حجم را دو برابر نمایید. در این صورت باید میزان شمارش دو برابر گردد، در غیر این صورت دستگاه از تنظیم خارج است.
برای اینکار می‌توانید از تریسرهای موجود در کیت‌های معمول رادیوایمونواسی استفاده و آن را رقیق نمایید.

- **آزمون عملکرد کلی سیستم**

عملکرد کلی سیستم شمارنده توسط یک متخصص و مهندس دستگاه مورد بررسی قرار گرفته و صحت کارکرد آن تایید می‌گردد.

کالیبراسیون

در هنگام نصب و راه‌اندازی و پس از هر سرویس و یا هر سه ماه یکبار باید کالیبراسیون دستگاه توسط شرکت پشتیبان انجام گیرد.

چگونگی کاربری

چگونگی کاربری در هر آزمایشگاه باید طبق کتابچه راهنمای دستگاه تدوین گردد.

ایمنی

- قبل از باز کردن دستگاه حتما سیم دستگاه از پریز برق بیرون آورده شود.
- جهت کار با دستگاه فقط از ولتاژ تعیین شده استفاده نمایید.
- از تعمیر دستگاه توسط افراد غیرمجاز اکیدا خودداری شود.
- از نصب قطعات و لوازم اضافه بدون نظارت شرکت پشتیبان اکیدا خودداری شود.
- کار با کیت‌های رادیوایمونواسی حتم در زیر هود مناسب انجام شده و کاربر از فیلم بچ استفاده نماید.
- جهت برطرف کردن آلودگی احتمالی، مواد شوینده مخصوص از سازمان انرژی اتمی تهیه و پسماندها به آن سازمان تحویل گردد.
- فرد استفاده کننده از کیت‌های رادیو ایمونواسی باید دوره‌های حفاظت در برابر اشعه را طی نموده باشد.
- باید هنگام کار با مواد شیمیایی و پرتوزای خطرناک، تمامی دستورالعمل‌های ایمنی مربوطه رعایت گردد.
- جهت ایمنی کاربر و دستگاه لازم است که وضعیت محیط نصب دستگاه دقیقا مطابق با شرایط درخواست شده در دفترچه راهنمای نصب و راه‌اندازی دستگاه باشد.

دستورالعمل فنی دستگاه کمی لومینسانس (Chemilumine scence)

کلیات

لومینسانس در واقع emission نور یا انرژی به دنبال رسیدن الکترون از سطح تحریک شده یا بالاتر انرژی به سطح پایین‌تر انرژی است.

در واکنش کمی لومینسانس واکنش شیمیایی یا الکتروشیمیایی باعث تهییج الکترون می‌شود و در حین بازگشت الکترون به سطح پایه انرژی، نور نشری پدید می‌آید.

با توجه به بسته بودن سیستم اتوماتیک با روش کمی لومینسانس یا الکتروکمی لومینسانس بخش قابل توجهی از کنترل کیفی دستگاه وابسته به بررسی نتایج نگه‌داری (Maintenance) براساس بروشور دستگاه می‌باشد. نتایج حاصل از آزمایش‌ها باید تحت کنترل کیفی داخل و خارجی واقع شوند.

نحوه نگه‌داری

با توجه به تنوع دستگاه‌های کمی لومینسانس در اینجا نگه‌داری یکی از انواع این دستگاه‌ها (مدل لیازون) بیان می‌شود.

۱) روزانه:

تانک Waste دستگاه را تخلیه کنید و ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول هیپوکلریت سدیم به تانک اضافه نمایید و مجددا آنرا به دستگاه متصل نمایید.

- سیستم Liquid دستگاه را چک کنید:
  - حجم محلول استارتر را چک کنید و با مقدار مورد نیاز روزانه خود مقایسه نمایید.
  - حجم محلول Wash دستگاه را چک کنید و با میزان مورد نیاز روزانه خود مقایسه کنید. محلول wash، ۶ ساعت قبل از استفاده باید تهیه شود.
- Dataهای خود را Save نمایید.
- تمام Iconهای Waste و ذخایر دستگاه را بررسی نمایید.
- در پایان کار روزانه پرایم‌های مربوط به اتمام کار را به دستگاه بدهید.
- سطح خارجی Needle را با گاز و آب مقطر پاک نمایید.
- برنامه Prime روزانه طبق جدول شماره ۳۰-۱ داده شود.

۲) هفتگی:

- سیستم را خاموش نمایید.
- دستگاه را تمیز نمایید:

با یک دستمال (گاز) مرطوب شده با H_2O و یا سواپ مرطوب شده با آب مقطر تمامی راه‌های خروجی کووت‌ها را پاک نمایید. سطح خارجی دستگاه کاملا پاک شود. محفظه نگه‌داری کیت‌ها Sampleها کاملا تمیز شوند.

- تانک تخلیه را خالی نموده و ۲۰۰ml هیپوکلریت سدیم به آن بیفزایید و مجددا به دستگاه متصل نمایید.
- سیستم Liquid دستگاه را چک کنید.
- دستگاه را روشن نمایید.
- سوزن‌ها را مرکزی کنید.
- Massage Box را تخلیه نمایید.
- Prime مربوطه را طبق جدول شماره ۳۰-۱ به دستگاه بدهید.

۳) ماهانه:

- دستگاه را خاموش نمایید.
- قسمت‌های خارجی و داخلی دستگاه را با گاز مرطوب شده با آب مقطر پاکیزه شود.
- قسمت‌های خارجی Needleها کاملا تمیز شوند.
- تانک تخلیه، تخلیه شود و ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به تانک افزوده شود.
- دستگاه را روشن نمایید.
- به جای Starter دو بطری حاوی آب مقطری که دمای آن به ۴۰°C-۳۵ رسیده باشد، می‌ریزیم و پرایم مربوطه را طبق جدول شماره ۳۰-۱ به دستگاه بدهید.
- به جای تانک حاوی Wash محلولی با هیپوکلریت سدیم ۰/۵٪ تهیه نموده و جایگزین نمایید و پرایم مربوطه را طبق جدول شماره ۳۰-۱ به دستگاه بدهید.

به عنوان مثال برای تهیه محلول ۷٪ باید ۷۰ml هیپوکلریت را به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر برسانید (۷۰ml / ۱۰۰۰cc).

- چک کنید که نتایج به دست آمده صحیح باشند (طبق جداول ۳۱-۱ و ۳۲-۱).
- سطح محلول‌های Starter و Wash را بررسی کنید تا برای مصرف روزانه کافی باشند.
- پی‌پت‌ها را مرکزی کنید.
- Dataهای خود را Save کنید.
- Massage Box را تخلیه کنید.
- از Cleaning Kit استفاده کنید.
- Prime ماهانه طبق جدول شماره ۳۰-۱ داده می‌شود.

Table 1-30: DiaSorin

	Cycles			Reaction Modules		
	Pipettor	Washer	Chamber Set A	BGW	LC-le	LC-ri
Normal	3	3	3	1	1	1
Before 3 or more days of non-activity	10	10	10	0	0	0
After 3 or more days of non-activity:						
- Run 1	10	10	10	0	0	0
- Run 2	10	10	10	1	1	1
Replace Starters	3	3	10	1	1	1
Monthly maintenance:						
- H2O- Hypochlorrite	10	10	10	0	0	0
- PUMP Solution – H2O	10	10	10	0	0	0
- H2O-H2O	10	10	10	0	0	0
- Starters-System Liquid-run 1	10	10	10	0	0	0
- Starters-System Liquid-run 2	10	10	10	3	3	3

بررسی نتایج حاصل از primeها طبق جداول شماره ۳۱-۱ و ۳۲-۱ می‌باشد.

Table 1-31: Attention: Never select more than 10 cycles for each assembly.

BGW:	120 < RLU < 320;	CV% < 8
LC:	120000 < RLU < 180000 ;	CV% < 2.5
Difference LC-le LC-ri %	See table in 1-32	

Table 1-32: To meet point 6,3,4 use the following table 1-31 (in R.L.U):

If the average of LC-le e LG-ri is		then their difference must not exceed
greater than	and less than	
120000	130000	6000
130000	140000	6500
140000	150000	7000
150000	160000	7500
160000	170000	8000
170000	180000	8500

کنترل کیفی

از آنجا که بیشتر دستگاه‌های ECL از نوع بسته می‌باشند کنترل کیفی آن به طور روزانه و براساس پیشنهاد کیت مربوطه انجام می‌شود. علاوه بر آن برای آشنایی بیشتر به یکی از روش‌های کنترل کیفی در زمان راه‌اندازی یا پس از سرویس در یکی از انواع مدل‌های این دستگاه اشاره می‌شود.

برای کنترل کیفی دستگاه Elecsys از محلول‌های تجاری آماده شرکت مربوطه که تحت عنوان SAP test موجود است استفاده می‌شود. محلول‌های این دستگاه شامل محلول‌های BCR1 و BCR2 و Procell است که خوانش‌های BCR1 در حد چندین صد سیگنال (برای کنترل Back ground) و BCR2 در حد میلیون سیگنال و Procell فاقد سیگنال است. با رقیق کردن ۱/۲۰ BCR2 فعالیت نمونه‌برداری Probe دستگاه چک می‌شود. با صد بار گذاردن alternate نمونه BCR2 و محلول Procell مقدار Carry Over به دست می‌آید. با تکرار ۱۰ بار محلول BCR1 و BCR2 و ۱/۲۰ BCR2 مقدار CV یا تکرارپذیری کارکرد دستگاه در سه سطح سیگنال به‌دست می‌آید. لازم به ذکر است که مقادیر قابل قبول هر کدام در جدول ۳۳-۱ در ستون Green Range آمده است.

Table 1-33: APC Tests; Targets (AM test)

ردیف	شاخص	واحد	محدوده سبز (Green Range)	محدوده نارنجی (Orange Range)	محدوده قرمز (Red Range)
1	Singal BCR1 average	counts	۲۰۰-۴۰۰	۴۰۰-۴۵۰	>۴۵۰
2	BCR1 precision	CV	≤۴/۰٪	۴/۰-۶/۰٪	>۶۰٪
3	Signal BCR2 average	counts	Target±۱۰٪	Target±۱۵٪	Target±≥٪۱۵
4	BCR2 precision	CV	≤۲/۰٪	۲/۰-۳/۵٪	>۳/۵٪
5	Signal BCR2 (1:20) dilution	Factor range	۱۷-۲۱	-	<۱۷ یا >۲۱
6	BCR2 (1:20) precision	CV	≤۵/۰٪	-	>۵/۰٪
7	iSAP range	CV	≤۸/۰٪	۸/۰-۱۰/۰٪	>۱۰/۰٪
8	Carry Over (CO)	ppm	≤۱۰۰	۱۰۰-۱۵۰	>۱۵۰
9	Signal iSAP average	counts	۸۵۰/۰۰۰ -۱/۲۰۰/۰۰۰	۸۰۰/۰۰۰ -۱/۳۰۰/۰۰۰	>۱/۳۰۰/۰۰۰ یا <۸۰۰/۰۰۰

دستورالعمل فنی دستگاه‌های محافظ و تامین کننده برق در آزمایشگاه

دستگاه‌های محافظ و تامین کننده برق شامل ولتاژ رگولاتور، منابع تغذیه اضطراری یا Uninterruptible Power Supply (UPS)، ژنراتور و خط اتصال به زمین می‌باشند.

کلیات

ثابت بودن ولتاژ مورد نیاز دستگاه‌ها و تجهیزات آزمایشگاهی نه تنها می‌تواند موجب کارآیی بهتر و بازدهی مطلوب‌تر آن دستگاه‌ها شود، بلکه باعث افزایش طول عمر مفید دستگاه و جلوگیری از خرابی‌های زود هنگام سیستم و قطعات الکترونیکی داخلی ناشی از نوسانات برق ورودی، می‌گردد از این رو استفاده از دستگاه‌های تثبیت کننده ولتاژ (ولتاژ رگولاتور) جهت تمامی لوازم و تجهیزات برقی مورد استفاده در آزمایشگاه‌های پزشکی توصیه می‌گردد.

از طرف دیگر قطع ناگهانی برق در تجهیزات آزمایشگاهی مخصوصا تجهیزات تمام اتوماتیک باعث اختلال در فعالیت این دستگاه‌ها شده و در برخی موارد امکان ادامه کار آنها را کاملا از بین می‌برد. ضمنا باید در نظر داشت که علاوه بر قطع برق شهر، نارسایی‌هایی مانند افت یا افزایش لحظه‌ای ولتاژ، نویز و فرکانس‌های رادیویی و تغییرات فرکانس در برق ورودی تجهیزات نیز می‌تواند باعث بروز خسارات جبران‌ناپذیری در سلامت تجهیزات آزمایشگاهی گردد. از این رو استفاده از دستگاه‌های تامین کننده برق اضطراری (UPS یا ژنراتور) با ویژگی‌های خاص که در ادامه به آن اشاره خواهد شد، جهت تجهیزات مورد نیاز در آزمایشگاه‌های پزشکی توصیه می‌گردد.

هم‌چنین به منظور حفاظت الکتریکی اوپراتور و نیز جلوگیری از تاثیر بارهای الکتریکی اضافی و مخرب روی تجهیزات در آزمایشگاه، ایجاد خط اتصال به زمین Earth و اتصال تمامی تجهیزات به آن اکیدا پیشنهاد می‌گردد.

مشخصات کاربردی در آزمایشگاه پزشکی

- **تثبیت کننده ولتاژ (Voltage Regulator)**

ولتاژ رگولاتور یا همان ترانس تقویت جهت تثبیت ولتاژ و جلوگیری از نوسانات برق شهر به کار می‌رود به نحوی که در صورت کاهش یا افزایش ولتاژ برق شهر یا ورودی، این سیستم به صورت خودکار و همزمان عمل کرده و موجب تصحیح ولتاژ می‌گردد و نهایتا ولتاژ ثابت ۲۲۰ ولت را در خروجی خود تامین می‌نماید.

دلایل استفاده از دستگاه ولتاژ رگولاتور شامل موارد زیر است:

- دستگاه ولتاژ رگولاتور جهت تثبیت ولتاژ و جلوگیری از اثرات نوسانات ولتاژ برق شهری روی تجهیزات برقی در آزمایشگاه پزشکی استفاده می‌گردد.
- دستگاه‌های ولتاژ رگولاتور جدید با بهره‌گیری از پیشرفته‌ترین تکنولوژی میکروپروسسوری همراه با سیستم DC Servo-motor سروموتور و ترانس الکترونیکی هوشمند، با نمونه‌برداری مرتب از ولتاژ ورودی، در صورت کاهش یا افزایش باعث تصحیح آن شده و موجب تثبیت ولتاژ خروجی می‌گردد.

استفاده از این دستگاه در تجهیزات ذیل اکیدا توصیه می‌گردد:

اسپکتروفتومتر، فتومتر، اتوآنالایزر، سل کانتر، گاما کانتر، الایزا ریدر، کمی لومینوسانس اتوماتیک و نیمه اتوماتیک، استریپ ریدرهای ادراری، میکروسکوپ، سدیمان ریدر، کوآگولومتر، نفلومتر، الکترولیت آنالایزر، بلاد گاز آنالایزر، الکتروفورز، بیلی‌روبین متر، PCR و...

نوسانات برق شهری می‌تواند ناشی از موارد ذیل باشد:

- مشکلات شبکه برق و افزایش بار شبکه در زمان‌های خاصی از شبانه روز و یا تغییرات شدید و ناگهانی ولتاژ ناشی از قطع و وصل برق شبکه
- فاصله مصرف کننده از شبکه و اصابت رعد و برق به شبکه برق
- بارهای نامتعادل و غیرخطی ناخواسته نظیر استفاده از لوازم پرمصرف مانند دستگاه جوش، دریل، پمپ آب، کولر گازی و ...
- کاهش و افزایش ولتاژ ناشی از خرابی ترانس محلی و یا اختلاف ولتاژ بین فازهای شبکه برق شهری
- اختلالات ناشی از فرکانس‌های رادیویی و یا اختلالات در فرکانس برق شهر

مزیت‌های استفاده از دستگاه ولتاژ رگولاتورهای میکروپروسسوری شامل موارد زیر است:

- دامنه وسیع اصلاح ولتاژ از ۱۴۰ ولت تا ۲۵۰ ولت در مدل‌های تک فاز و۲۸۰ تا۴۵۰ ولت در مدل‌های سه فاز
- ولتاژ خروجی کاملا خطی و پیوسته بدون هیچگونه پرش یا نوسان
- دارای صفحه نمایش دیجیتال جهت نشان دادن ولتاژ ورودی، ولتاژ خروجی و جریان مصرفی و شرایط عمومی دستگاه
- استفاده از فیلتر جهت جلوگیری از نویز یا پارازیت‌های لحظه‌ای در ولتاژ خروجی
- دارای سیستم کاملا هوشمند میکروپروسسوری جهت کنترل قسمت‌های مختلف دستگاه

- دارای سیستم تاخیری در وصل اولیه ولتاژ قابل تنظیم در ۵ ثانیه یا ۱۸۰ ثانیه
- دارای سیستم هشدار به صورت آلارم در اثر اضافه بار مصرفی
- دارای سیستم خاموش کردن دستگاه در صورت مصرف بیشتر از ۲/۸ برابر توان نامی
- دارای کلید Bypass جهت یکسره نمودن ورودی و خروجی در شرایط اضطراری
- دارای سیستم اتوماتیک خاموشی دستگاه در صورت دو فاز شدن ولتاژ ورودی در مدل‌های سه فاز
- دارای سیستم خنک کننده در صورت گرم شدن بیش از حد
- تنظیم میزان درصد خطا، ولتاژ خروجی قابل تنظیم به صورت ۱٪± ۳٪± ۵٪ ±
- بی سر و صدا کار کردن دستگاه مخصوص محیط‌های آرام
- دارای ولتاژ خروجی تثبیت شده در دو دامنه ۲۲۰ ولت و ۱۱۰ ولت
- راندمان ۹۸٪ و جریان بی باری بسیارکم در حدود ۰/۲ آمپر
- زمان اصلاح ولتاژ خروجی کمتر از نیم ثانیه
- توانایی اصلاح مستقل و هماهنگی و بالانس هر فاز به‌طور مجزا در مدل‌های سه فاز
- قطع جریان در صورت قطع شدن هریک از فازها در مدل‌های سه فاز
- شکل موج سینوسی کامل مطابق با استانداردهای برق ایران
- مطابقت با استانداردهای SB/T 10266 و Q/HBW-11

- **منابع تغذیه اضطراری (یو پی اس (UPS) و ژنراتور)**

برخی از سیستم‌های حساس و مهم در آزمایشگاه پزشکی به ویژه تجهیزات فول اتوماتیک مانند اتوآنالایزرهای بیوشیمی، کمی لومینسانس، الایزا، آنالایزرهای هماتولوژی و کوآگولومترها و هم‌چنین سیستم‌های پذیرش و جوابدهی و کامپیوترهای مرکزی و سرور آزمایشگاه باید هنگام قطع برق شهری به طریقی از یک منبع تغذیه دیگر استفاده نموده و به نحوی به کار خود ادامه دهند.

منابع تغذیه‌ایی که وظیفه تامین برق را در هنگام قطع برق شبکه به عهده دارند «منابع تغذیه اضطراری» نامیده می‌شوند.

منابع تغذیه اضطراری بسته به نوع سیستم مورد تغذیه، خصوصیات متفاوتی دارند. برخی از آن‌ها که از باطری برای تولید انرژی الکتریکی استفاده می‌کنند، فقط قادرند برای مدت محدودی (بسته به میزان مصرف مورد تغذیه) برق آن را تامین نمایند، این دسته از منابع تغذیه UPS (Uninterruptible Power Supply) نامیده می‌شوند. در UPSها برق باطری توسط یک مدار اینورتر به ولتاژ ۲۲۰ ولت متناوب تبدیل می‌گردد. در انتخاب یک UPS باید به توان خروجی آن که بر حسب ولت آمپر (VA) یا کیلو ولت آمپر (KVA) بیان می‌گردد، توجه نمود.

توان واقعی ماکزیمم مصرف کننده در واحد وات تنها ۶۰ درصد از مقدار ولت آمپر نامی UPS است، هنگامی که شما می‌خواهید اندازه یک UPS را انتخاب کنید، باید مطمئن شوید که توان خالص بارهای شما از ۶۰ درصد از توان UPS VA تجاوز نمی‌کند. به عنوان مثال، اگر سیستم شما ۳۰۰ وات مصرف می‌کند، شما نیاز به خرید یک منبع تغذیه با توان حداقل VA ۵۰۰=۰/۶ / ۳۰۰ دارید.

۶۰٪ / حداکثر توان مورد نیاز = حداقل توان منبع تغذیه خریداری شده

هم‌چنین علاوه بر محدودیتی که توان خروجی UPS در تعداد دستگاه‌های مورد تغذیه ایجاد می‌کند، محدودیتی نیز در زمان تغذیه دستگاه‌ها وجود دارد. هر چقدر توان جریان دهی (آمپراژ) باطری‌های متصل به UPS بیشتر باشد مدت زمان طولانی‌تری می‌توان دستگاه‌ها را با UPS تغذیه نمود.

باطری‌ها به دو صورت داخلی و یا خارجی که به‌صورت جداگانه در کابینت مخصوصی به نام Battery Rack قرار می‌گیرند، به UPS متصل می‌شوند. برای محاسبه دقیق آمپر باطری مناسب با زمان تغذیه دلخواه، بهتر است که به برگه داده‌های مربوط به UPS و باطری متناسب با آن مراجعه و یا با استفاده از فرمول ذیل آن را به‌صورت حدودی محاسبه نمود:

(ولتاژ دی‌سی مورد نیاز UPS / وات نامی دستگاه)×۱/۵× (زمان مورد نظر بر حسب ساعت) = میزان آمپر باطری

مثلا برای یک دستگاه اتوآنالایزر بیوشیمی با توان نامی ۱۵۰۰ وات در صورت استفاده از یک UPS ۹۶ ولتی برای داشتن برق ذخیره به مدت یک ساعت و نیم باید از باطری‌های حدود ۳۵ آمپری استفاده نماییم: (۱۵۰۰/۹۶)×۱/۵×(۱/۵)=۳۵/۱۵

توجه: استفاده از باطری‌های مخصوص از نوع سیلد لید اسید Sealed Lead Acid در UPSها توصیه می‌گردد.

UPS ها از نظر نوع عملکرد به سه دسته آن لاین یا Double Conversion ، آف لاین یا Stand-By و Line-interactive دسته‌بندی می‌شوند.

UPSهای آن لاین همواره برق مورد نیاز دستگاه را تامین می‌نمایند به نحوی که دستگاه یا مصرف کننده متصل به آن، همیشه برق خود را از UPS تامین می‌نماید و UPS در صورت قطع برق شهر بدون تاخیر و کوچک‌ترین وقفه‌ایی برق‌رسانی به مصرف کننده را ادامه خواهد داد. در حالی که در UPSهای آف لاین و Line-interactive با قطع برق شهر، دستگاه مصرف کننده خاموش خواهد شد و پس از روشن نمودن UPS، باید مصرف کننده را مجددا روشن نمود. در این حالت دستگاه مصرف کننده یک بار خاموش و روشن خواهد شد. همانطور که می دانید این عمل در حین کار با دستگاه‌های اتوماتیک علاوه به ایجاد صدمه به دستگاه باعث بروز خسارات ناشی از بین رفتن مواد مصرفی، کیت‌ها و نمونه‌های بیماران، کنترل و استانداردها می‌شود و اگر وضعیت قطع و وصل برق

شهر چندین بار پشت سر هم رخ دهد، صدمات جدی به دستگاه مانند شکسته شدن سوزن‌ها، سوختن لامپ و یا سایر قطعات الکترونیکی وارد خواهد شد. لذا استفاده از UPSهای آن لاین در آزمایشگاه توصیه می‌گردد.

معمولا UPSهای آن لاین دارای تنظیم‌کننده اتوماتیک ولتاژ یا Automatic Voltage Regulator (AVR) مـی‌باشند، همـان‌طـور کـه در بخش قبل بیـان شد وظیفه AVR تثبیت ولتاژ برق خروجی می‌باشد که این عمل در UPSهای آن لاین در هر دو حالت وجود و یا قطع برق شهر به-صورت اتوماتیک انجام می‌پذیرد.

نشانگرهای موجود در پانل جلویی یک UPS آن لاین معمولا عبارتند از:

- نشانگر میزان شارژ باطری‌ها
- نشـانـگـر وضعیت UPS (حـالـت استفاده از بـرق شهـر یـا باطری، در حالت باطری UPS آلارم می‌دهد)
- نشانگر روشن یا خاموش بودن UPS (در حالت خاموش نشانگر Bypass و در حالت روشن نشانگر Inverter روشن می باشد)
- نشانگر برق ورودی نامناسب (Fault)
- دکمه‌های روشن و خاموش

یک UPS مناسب جهت تجهیزات آزمایشگاهی باید دارای شرایط ذیل باشد:

- Online باشد.
- Double Conversion باشد.
- دارای سیستم ولتاژ رگولاتور اتوماتیک داخلی Automatic Internal Voltage Regulator باشد.
- Base Transformer باشد.
- دارای شکل موج خروجی تمام سینوسی باشد.
- توان کار با ژنراتور را داشته باشد یعنی Power Factor Correction را پشتیبانی کند.
- فرکانس خروجی آن تغییر نکند.

همان‌طور که می‌دانید فرکانس برق ایران ۵۰ هرتز است اما در برخی کشورها مانند ژاپن یا امریکا این فرکانس ۶۰ هرتز می‌باشد. این تفاوت فرکانس در مصرف‌کننده‌هایی مانند لامپ‌ها یا وسایل تولید حرارت اختلالی ایجاد نمی‌کند اما در وسایلی که مجهز به الکتروموتور هستند باعث کاهش سرعت گردش موتور شده که می‌تواند باعث بروز مشکلاتی در قسمت‌های مکانیکی و الکترونیکی و حتی بردهای میکروپروسسوری کنترل کننده در آن دستگاه گردد).

نکته: اگر UPS مشخصه PFC را نداشته باشد توان ژنراتور باید ۱/۵ برابر UPS در نظر گرفته شود و اگر این مشخصات را دارا باشد، بایستی ۱/۱۵ برابر UPS باشد.

دسته دیگری از منابع تغذیه که از یک موتور مکانیکی و مولد الکتریکی که با سوختی نظیر بنزین، گازوئیل و یا گاز برای تولید برق اضطراری استفاده می‌کنند، ژنراتور نامیده می‌شوند. ژنراتور تا زمانی که سوخت‌رسانی به آن انجام شود می‌تواند انرژی الکتریکی تولید نماید. ژنراتورها را معمولا به دو دسته توان پایین و توان بالا دسته‌بندی می‌کنند. ژنراتورهای توان پایین تا KVA ۱۰ برق دهی را پشتیبانی می‌کنند و معمولا سوخت آن‌ها بنزین است. سوخت ژنراتورهای با توان بالا دیزلی است. ژنراتورها به دوگونه دستی یا اتوماتیک راه‌اندازی می‌شوند. زمان تاخیری جهت راه‌اندازی اتوماتیک حدودا ۲ دقیقه و راه‌اندازی دستی حدودا ۱۰ دقیقه می‌باشد. با توجه به ایجاد صدای بلند هنگام کار ژنراتور، می‌توان از محفظه‌های صداگیر که تا ۸۵٪ کاهش صدا را به دنبال خواهد داشت استفاده نمود.

در کنار دستگاه‌های تامین کننده برق اضطراری UPS (به دلیل گران بودن و محدودیت در مدت زمان برق دهی طولانی مدت) لازم است تا در صورت نیاز، آزمایشگاه (مخصوصا در مراکز بیمارستانی و آزمایشگاه‌های شبانه روزی)، از ژنراتور جهت ادامه تامین برق اضطراری استفاده نماید. نحوه کار بدین صورت است که در هنگام قطع و برای جلوگیری از اختلال در کار آزمایشگاه و تجهیزات آن (تا زمان به کار افتادن ژنراتور)، UPS آن لاین وارد مدار شده و برق آزمایشگاه را تامین می‌کند و به محض روشن شدن ژنراتور، برق مورد نیاز از طریق ژنراتور تامین می‌شود.

- **خط اتصال به زمین**

بـه منظـور حفـاظـت الکتریکـی اوپـراتـور و نیز جهت جلوگیری از تاثیر مخرب بارهای اضافی روی سیستم‌های برقی آزمایشگاه لازم است که خط اتصال با زمین یا Earth برقرار گردد. در این سیستم، خط نول شهری توسط کابل مسی به چاه ارت مرتبط می‌شود که در این حالت اختلاف ولتاژ بین نول شهری و خط ارت احداث شده نباید از ۵ ولت تجاوز نماید.

مزایای استفاده از خط زمین (سیم ارت) شامل موارد زیر است:

- حفاظت و ایمنی اوپراتور
- حفاظت و ایمنی وسایل و تجهیزات الکتریکی و الکترونیکی
- فراهم آوردن شرایط ایده‌ال جهت کار
- جلوگیری از تولید ولتاژ تماسی
- حذف ولتاژهای اضافی و جلوگیری از ولتاژهای ناخواسته
- حفاظت در مقابل برخورد صاعقه و میدان مغناطیسی
- اطمینان از قابلیت کار الکتریکی

- یکنواخت کردن ولتاژ در هنگام رخداد ولتاژهای ضربه، اضافی، القایی و سپس به حداقل رساندن احتمال تخلیه ناگهانی ولتاژ
- منحرف کردن امواج و انرژی‌های سرگردان (RF) از تجهیزات حساس آزمایشگاهی و کامپیوتری

انتخاب محل چاه ارت

چاه ارت را باید در جاهایی که پایین‌ترین سطح را داشته و دسترسی به‌رطوبت در عمق کمتری امکان‌پذیر باشد و یا در نقاطی که بیش‌تر در معرض رطوبت و آب قرار دارند مانند زمین‌های چمن، باغچه‌ها و فضاهای سبز حفر نمود.

عمق چاه

با توجه به مقاومت مخصوص زمین، عمق چاه می‌تواند بین ۴ متر تا ۸ متر و قطر آن حدودا ۸۰ سانتی‌متر باشد. در زمین‌هایی که با توجه به نوع خاک دارای مقاومت مخصوص کمتری هستند، مانند خاک‌های کشاورزی و رسی عمق مورد نیاز برای حفاری کمتر بوده و در زمین‌های شنی و سنگلاخی کـه دارای مقاومـت مخصوص بـالاتری هستند نیـاز به حفر چاه با عمق بیشتر می‌باشد. برای اندازه‌گیری مقاومت مخصوص خاک از دستگاه‌های خاص استفاده می‌گردد. در صورتی که تا عمق ۴ متر به رطوبت نرسیدیم و احتمال بدهیم در عمق بیشتر از ۶ متر به رطوبت نخواهیم رسید نیازی نیست چاه را بیشتر از ۶ متر حفر کنیم. به‌طور کلی عمق ۶ متر (۸-۴ متر) و قطر حدود ۸۰ سانتی‌متر برای حفر چاه پیشنهاد می‌گردد.

شرایط ایجاد چاه ارت استاندارد شامل موارد زیر است:

- حفر چاه تا رسیدن به خاک نم‌دار ادامه می‌یابد.
- پودر ذغال و نمک (کلرید سدیم) به نسبت یک به دو (هرکیلو ذغال دو کیلو نمک) به مقدار ۴۰ کیلوگرم در چاه ریخته شود (این مواد با مقاومت خاک نسبت عکس دارند و کم یا زیاد کردن این مواد مقاومت خاک را زیاد و یا کم می‌گرداند).
- صفحه‌ای مسی به اندازه ۵۰cm×۵۰cm و به قطر یک سانتی‌متر به‌صورت تیغه‌ای (عمودی) روی نمک و ذغال قرار گیرد.
- سیم مسی به قطر ۵۰ میلی‌متر توسط کابل مسی و پیچ و مهره مخصوص از جنس مس جهت جلوگیری از پوسیدگی و زنگ زدگی به صفحه مسی متصل می‌شود.
- لوله پولیکا به قطر ۴ یا ۶ سانتی‌متر کنار هر چاه نصب می‌گردد. (سوراخ‌های متعددی در بدنه لوله پلیکا ایجاد نموده تا اطراف لوله و چاه را مرطوب نگه دارد.)
- در پایان نیز چاه با خاک رس و نرم پر می‌شود.
- مقاومت چاه با استفاده از دستگاه ارت سنج باید زیر ۲ اهم باشد. (IEC-60100)

نحوه نگه‌داری

شرایط نگه‌داری هر دستگاه در کتابچه راهنمای آن ذکر گردیده است، لیکن در ادامه به چند مورد مهم در مورد تجهیزات این بخش اشاره می‌گردد:

- دمای محیط بین ۱۰ الی ۴۰ درجه سانتی‌گراد باشد.
- رطوبت نسبی بین ۱۰ الی ۹۰ درصد مناسب است.
- زمین قرارگیری باید کاملا صاف، افقی و مسطح باشد.
- وجود تهویه مناسب در محیط ضروری است.
- هیچ‌گونه نویز، گرد و غبار و ارتعاش در محیط نبایستی وجود داشته باشد.
- این تجهیزات بایستی از معرض مستقیم تابش نور خورشید و آب به دور باشند.
- فواصل جانبی دستگاه و باطری‌های آن با دیوار و سایر تجهیزات بایستی رعایت شود.
- هرگز روی تجهیزات فوق الذکر شی یا وسیله‌ایی قرار نگیرد.

کنترل کیفی

کنترل کیفی تجهیزات مذکور از نظر ولتاژ و فرکانس ورودی و خروجی، کیفیت باطری‌ها، خط ارت و جریان نشتی و هم‌چنین بار الکتریکی مورد نیاز مصرف کننده‌ها باید توسط شرکت پشتیبان سالانه یک مرتبه صورت پذیرد.

ایمنی

- شرایط عمومی ایمنی برای سیستم‌های برق اضطراری باید مطابق با استاندارد IEC 62040-3 باشد، که محدودیت‌هایی در دامنه و طول مدت انحراف از ولتاژ خروجی قابل قبول برای منابع تغذیه سوئیچ‌دار Switched Mode Power Supply یا SMPS را ارایه می‌کند.
- محیط نصب دستگاه باید مجهز به سیستم اطفای حریق باشد.
- محیط نصب دستگاه باید عاری از هرگونه مواد آتش‌زا و منفجره باشد.
- دستگاه باید به خط ارت مناسب (کمتر از ۵ ولت) متصل گردد.
- جهت ایمنی کاربر و دستگاه لازم است که وضعیت محیط نصب دستگاه دقیقا مطابق با شرایط درخواست شده در کتابچه راهنمای نصب و راه‌اندازی کالا باشد.

فصل دوم

اصول پایه و مفاهیم محلول‌سازی

اصول پایه و مفاهیم محلول‌سازی

مقدمه

اصول محلول‌سازی از مباحث پایه و اساسی در آزمایشگاه است که درک آن منوط به آشنایی با مفاهیم ریاضی می‌باشد و اگر چه در ظاهر انجام آزمایش‌ها ارتباط مستقیمی با آن ندارد اما تهیه صحیح، علمی و دقیق محلول‌های مورد نیاز بر پایه فرمول‌ها و محاسبات علمی در به‌دست آوردن نتایج صحیح موثر است.

آشنایی پرسنل فنی آزمایشگاه با نحوه محلول‌سازی، تهیه رقت‌های مختلف از یک محلول، محاسبه ضریب رقت و ... لازم بوده و حداقل وجود یک مستند موثق در آزمایشگاه برای دسترسی سریع به مطالب آموزشی و فرمول‌ها بسیار مفید است.

از این رو در این فصل مفاهیم پایه محلول سازی از جمله مولاریته، نرمالیته، اکی والان و تهیه محلول با غلظت‌های خاص همراه با فرمول‌های مربوطه و مثال‌های مختلف بیان شده است.

رقیق‌سازی

عمل رقیق‌سازی در قسمت‌های مختلف آزمایشگاه مورد نیاز است. برای به‌دست رقت مورد نظر می‌توان از فرمول زیر استفاده نمود.

$$\frac{\text{حجم نمونه}}{\text{حجم رقیق کننده + حجم نمونه}} \quad \text{یا} \quad \frac{\text{حجم نمونه}}{\text{حجم کل}}$$

نکته: باید در نظر داشت مفهوم نسبت با رقت اشتباه نشود. برای مثال زمانی که گفته می‌شود محلول به نسبت ۱ به ۴ ساخته شود، باید ۱ قسمت نمونه با ۴ قسمت رقیق‌کننده ترکیب شود در حالی که رقت این محلول ۱/۵ می‌باشد.

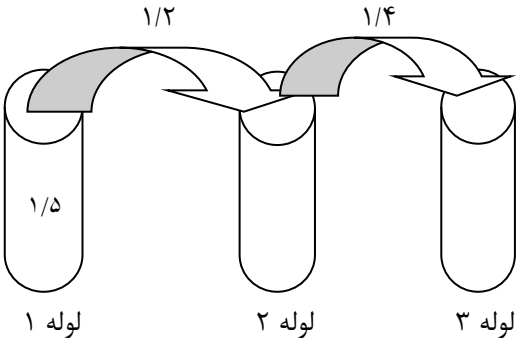
• رقیق‌سازی سریال و چندگانه

در رقیق‌سازی سریال مجموعه‌ای از رقت‌هایی پی‌درپی از نمونه تهیه می‌شود. تفاوت رقت‌سازی سریال و چندگانه در مقدار رقیق‌کننده موجود در لوله‌ها می‌باشد که در مورد رقت‌سازی چندگانه میزان رقیق‌کننده در لوله‌ها متفاوت ولی در رقت‌سازی سریال این مقدار در تمامی لوله‌ها مساوی است. در هر دو مورد رقت نهایی در هر لوله از رابطه زیر پیروی می‌کند.

رقت نهایی = رقت لوله اول × رقت لوله دوم × رقت لوله سوم × ...

در مورد رقیق‌سازی سریال و چندگانه اگر غلظت ابتدایی مشخص باشد، می‌توان غلظت هر کدام از لوله‌ها را محاسبه نمود. برای این کار ابتدا رقت لوله را به‌دست آورده و سپس فاکتور رقت را محاسبه می‌کنیم ($\frac{1}{\text{رقت}}$) و غلظت ابتدایی را به فاکتور رقت تقسیم می‌کنیم و یا در رقت ضرب می‌کنیم.

مثال ۱-۲: نمونه‌ای با غلظت ۱۵۷۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر را مطابق شکل ۱-۲ رقیق نموده‌ایم. غلظت لوله سوم چند میلی‌گرم در دسی‌لیتر است؟



رقت در لوله ۳:

$$۱/۴۰ = ۱/۴ \times ۱/۲ \times ۱/۵$$

فاکتور رقت در لوله ۳: $\frac{1}{\frac{1}{40}} = ۴۰$

غلظت در لوله ۳: $۱۵۷۰ \times \frac{1}{40} = ۳۹/۲۵$

شکل ۱-۲: نحوه رقیق سازی در نمونه مثال ۱-۲

رقیق‌سازی حجمی (مستقیم)

این نوع رقیق‌سازی بیشتر در آزمون خطی بودن یا اندازه‌گیری هموگلوبین به روش دستی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این نوع رقیق‌سازی، حجم‌های افزایشی از محلول ذخیره با حجم‌های کاهشی از ماده رقیق‌کننده و یا بالعکس با یکدیگر ترکیب می‌شوند، به‌طوری که حجم نهایی یکسان می‌ماند. برای مثال در ۵ لوله متوالی محلول ذخیره را به ترتیب ۱ سی‌سی، ۲ سی‌سی، ۳ سی‌سی، ۴ سی‌سی و ۵ سی‌سی اضافه کرده و سپس محلول رقیق‌کننده را به ترتیب ۴ سی‌سی، ۳ سی‌سی، ۲ سی‌سی، ۱ سی‌سی و صفر سی‌سی اضافه می‌کنم. به‌طوری‌که ملاحظه می‌شود حجم در همه لوله‌ها ۵ سی‌سی ثابت مانده است ولی غلظت لوله‌ها به نسبت مساوی افزایش می‌یابد.

محاسبات مربوط به غلظت

برای تهیه محلول‌های مصرفی مورد نیاز از یک محلول ذخیره و غلیظ می‌توان از فرمول زیر استفاده نمود:

$C_1V_1=C_2V_2$

C_1: غلظت محلول ذخیره

V_1: حجم محلول ذخیره مورد نیاز

C_2: غلظت محلول جدید

V_2: حجم محلول جدید

مثال ۲-۲: ۲۰ میلی‌لیتر محلول ۲ مولار در یک فلاسک حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری رقیق گردید، غلظت محلول جدید را حساب کنید.

$C_1=2M$

$V_1=20ml$ $\qquad$ $C_1V_1=C_2V_2$

$C_2=?$ $\qquad$ $۲\times۲۰=C_۲\times۱۰۰$

$V_2=۱۰۰Ml$ $\qquad$ $C_2=۰/۴M$

مولاریته

غلظت محلول‌ها به‌صورت استاندارد با واحد مولاریته بیان می‌شود.

محلول یک مولار محلولی است که در آن یک مول از ماده حل شده در یک لیتر محلول مورد نظر موجود باشد. به عبارت دیگر تعداد مولکول گرم ماده موجود در یک لیتر محلول را غلظت مولی (مولکولی) یا مولاریته می‌نامند.

وزن مولکولی یک ماده مرکب حاصل جمع وزن اتمی تمامی عناصر تشکیل دهنده این مولکول می‌باشد.

تعریف محلول مولار با فرمول زیر قابل نمایش است.

$$\text{مول} = \frac{\text{وزن ماده حل شده}}{\text{وزن مولکولی ماده حل شده به گرم}}$$

$$\text{مولاریته} = \frac{\text{یک مول ماده حل شده}}{\text{یک لیتر محلول}}$$

مثال ۳-۲: اگر به ۱۰۰ سی‌سی محلول یک مولار NaOH نیاز داشته باشیم چند گرم NaOH بـرای سـاخت این محلول لازم است؟

$$\text{مولاریته} = \frac{\text{یک مول ماده حل شده}}{\text{یک لیتر محلول}}$$

$$\text{مولاریته} = \frac{\frac{\text{وزن ماده حل شده}}{\text{وزن مولکولی ماده حل شده به گرم}}}{\text{یک لیتر محلول}} \quad \Rightarrow \quad 1=\frac{\frac{x}{40}}{0.1} \qquad x=۴gr$$

اکی‌والان وزنی و نرمالیته

اکی‌والان گرم: مقداری از ماده شیمیایی که معادل یک گرم هیدروژن باشد اکـی‌والان گـرم مـاده می‌نامند.

$$\text{اکی‌والان گرم} = \frac{\text{جرم مولکولی}}{\text{ظرفیت}}$$

برای محاسبه اکی‌والان گرم مواد مختلف به موارد زیر توجه کنید:

$$\text{اکی‌والان گرم اسیدها} = \frac{\text{جرم مولکولی اسید}}{\text{تعداد H}}$$

$$\text{اکی‌والان گرم بازها} = \frac{\text{جرم مولکولی باز}}{\text{تعداد OH}}$$

$$\text{اکی‌والان گرم نمک‌ها} = \frac{\text{جرم مولکولی نمک}}{\text{ظرفیت فلز} \times \text{تعداد آن}}$$

محلول‌های نرمال و نرمالیته

تعداد اکی‌والان گرم‌های موجود در یک لیتر محلول را نرمالیته محلـول مـی‌نامنـد و بـا حـرف N نشان می‌دهند.

$$N=\frac{\text{تعداد اکی‌والان گرم ماده حل شده}}{\text{لیتر}}=\frac{\frac{\text{تعداد گرم ماده حل شده}}{\text{اکی‌والان گرم ماده حل شده}}}{\text{لیتر}} \qquad \mathbf{N=\frac{C}{E}}$$

$$\textbf{اکی‌والان گرم}=\frac{\text{جرم مولکولی}}{\text{ظرفیت}}=\frac{GMW}{n} \qquad \mathbf{E=\frac{M}{n}}$$

در این فرمول

C : غلظت

E: اکی‌والان گرم

n: ظرفیت می‌باشد.

مثال ۴-۲: نرمالیته محلولی که حاوی ۹۸ گرم H2SO4 در نیم‌لیتر باشد را محاسبه کنید.

راه اول:

$$\mathbf{E=\frac{98.08}{2}}=۴۹/۰۴$$

۹۸gr	۰/۵ Litre
x =۱۹۶	۱

$$\mathbf{N=\frac{C}{E}=\frac{196}{49.04}}\approx ۴\text{Eq/L}$$

راه دوم:

$$\mathbf{N=\frac{\frac{g}{GMW}}{\frac{n}{\text{لیتر}}}=\frac{\frac{98}{98}}{\frac{2}{0.5}}=\frac{\frac{98}{49}}{0.5}=4}$$

اگر بخواهید از نرمالیته بالا به نرمالیته‌های پایین‌تر برسید به روش زیر عمل کنید:

مثال ۵-۲: اگر از اسیدفسفریک یک نرمال تهیه شده بخواهیم صد سی‌سی اسید ۰/۰۱ نرمال تهیه کنیم از فرمول زیر استفاده می‌شود:

$N_1V_1=N_2V_2$

$۱\times V_1 = ۰/۰۱\times ۱۰۰ \Rightarrow V_1=1cc$

V_1= حجمی که باید برداشت شود و به حجم ۱۰۰cc برسد تا اسید با نرمالیته ۰/۰۱ از ۱ نرمال تهیه شود.

مولالیته

محلول یک مولال حاوی یک مول ماده حل شده در یک کیلوگرم محلول می‌باشد.

مثال ۶-۲: چند گرم NaOH برای ساختن محلول ۲ مولال مورد نیاز است؟

۴۰ گرم	۱ مولال	
x	۲ مولال	

$\Rightarrow \quad x = ۸۰gr$

محلول‌های درصدی

در آزمایشگاه از مفهوم غلظت درصد نیز به صورت متداول و به سه شکل مختلف استفاده می‌شود. حجم کلی حلال در هر سه حالت، صد میلی‌لیتر است.

الف – Weight/Weight (W/W) یا وزن / وزن:

این محلول‌ها بیشترین صحت را دارا می‌باشند زیرا بر خلاف محلول‌های وزنی/حجمی اندازه‌گیری این نوع محلول با تغییر درجه حرارت محیط دچار نوسان نمی‌شود.

$$\%W/W = \frac{\text{واحد وزن ماده حل شده}}{\text{واحد وزن محلول } 100} = \frac{\text{گرم ماده حل شده}}{\text{گرم محلول } 100}$$

منظور از این درصد: مثلا W/W ۵٪ یعنی اینکه وزن ماده حل شده، ۵٪ وزن کلی تمامی محلول است.

مثال ۷-۲: یک آزمایشگاه چگونه می‌تواند ۱۵۰ گرم از محلول W/W ۲۰٪ از NaCl تهیه کند؟

$$٪۲۰ = \frac{\text{گرم } \mathbf{Nacl\ x}}{\text{گرم محلول } \mathbf{100}} \quad \Rightarrow \quad x=۲۰gr$$

یعنی برای ۱۰۰ گرم محلول نیاز به ۲۰ گرم Nacl می‌باشد. برای ۱۵۰ گرم محلول می‌توان تناسب زیر را به‌کار برد.

۱۰۰ گرم محلول	۲۰ گرم NaCl	
۱۵۰ گرم محلول	x	

$\Rightarrow \quad x=۳۰gr$

یعنی برای تهیه ۱۵۰ گرم محلول، لازم ۳۰ گرم NaCl در ۱۲۰ گرم حلال حل شود تا ۱۵۰gr محلول ایجاد شود.

ب – Weight/Volume (W/V) یا وزن / حجم:

پرمصرف‌ترین محلول درصدی در آزمایشگاه بالینی است. برای ساختن این محلول مقدار ماده حل شدنی را وزن می‌کنند. سپس در یک فلاسک حجمی ریخته و با اضافه کردن تدریجی محلول، ماده حل شدنی را حل می‌کنیم و در نهایت محلول را به حجم مورد نظر می‌رسانیم.

$$\%W/V = \frac{\text{گرم ماده حل شده}}{\text{محلول } 100ml} = \frac{\text{گرم ماده حل شده}}{\text{محلول } 1dl}$$

در این فرمول W/V ۵٪ یعنی در ۱۰۰ml محلول ۵ گرم ماده حل شده وجود دارد.

مثال ۸-۲: چگونه می‌توان ۳۵۰ میلی‌لیتر محلول W/V ۱۲٪ از HCL ساخت؟

براساس فرمول فوق:

$$\text{٪۱۲} = \frac{x \text{ گرم}}{100ml} = \text{۱۲gr}$$

یعنی باید ۱۲ گرم از HCL را در حجم مناسبی از محلول (آب) حل کرد تا به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید و برای ساختن ۳۵۰ میلی‌لیتر محلول می‌توان تناسب زیر را استفاده کرد.

۱۰۰ میلی‌لیتر محلول	۱۲ گرم	$\Rightarrow$ x=۴۲gr
۳۵۰ میلی‌لیتر	x	

بنابراین باید ۴۲ گرم از HCL را را در حجم مناسبی از حلال، حل کرده تا حجم محلول به ۳۵۰ میلی‌لیتر برسد.

ج – Volume/Volume (V/V) یا حجم / حجم:

$$\%V/V = \frac{\text{ml مایع حل شده}}{\text{محلول } 100ml} = \frac{\text{ml مایع حل شده}}{\text{محلول } 1dl}$$

براساس این فرمول: V/V ۵٪ یعنی ۵٪ تمامی محلول مایع حل شده است.

مثال ۹-۲: چگونه می‌توان ۵۰ میلی‌لیتر محلول ۶۰V/V٪ از HNO3 در آب ساخت؟

براساس فرمول فوق:

$$\text{٪۶۰} = \frac{\text{xml از HNO3}}{\text{100ml محلول}} = \text{۶۰}$$

باید ۶۰ میلی‌لیتر از HNO3 تهیه نموده و به ۴۰ میلی‌لیتر آب اضافه نموده تا حجم محلول به ۱۰۰ میلی‌لیتر برسد و محلول ۶۰V/V٪ داشته باشیم. برای تهیه ۵۰ میلی‌لیتر از این حجم باید تناسب زیر را بست:

۱۰۰ml	۶۰ml
۵۰ml	x

x=۳۰

باید ۳۰ میلی‌لیتر از HNO3 را به ۲۰ میلی‌لیتر آب اضافه کرد تا ۵۰ میلی‌لیتر محلول ۶۰V/V٪ داشت.

تبدیل محلول‌های درصدی به مولاریته و نرمالیته

در شرایط خاصی لازم است نرمالیته و مولاریته محلول‌های درصدی محاسبه شود که در این رابطه از دو فرمول زیر استفاده می‌شود.

$$M = \frac{\%W/V \times 10}{gmw}$$

gmw : وزن مولکولی به گرم

$$N = \frac{\%W/V \times 10}{eqwt}$$

eqwt : وزن اکی‌والان

محلول‌های بدون آب و آب‌دار

در آزمایشگاه بالینی از نمک‌های شیمیایی آب‌دار (دارای آب تبلور) استفاده می‌شود. تفاوت این نمک‌ها با نوع خشک آن، تعدادی مولکول آب است که همراه مولکول نمک وجود دارد. در صورتی که فقط نمک آب‌دار در آزمایشگاه موجود باشد باید مقدار ماده خشک آن محاسبه شده و در اندازه‌گیری‌های مختلف اعمال گردد.

فرمول پایه‌ای تبدیل مواد شیمیایی آب‌دار و خشک به قرار زیر است:

$$\frac{\text{مقدار گرمی ماده شیمیایی خشک}}{\text{مقدار گرمی ماده شیمیایی آب‌دار}} = \frac{\text{وزن مولکولی ماده شیمیایی خشک}}{\text{وزن ملکولی ماده شیمیایی آب‌دار}}$$

مثال ۱۰-۲: تهیه محلول ۱۰٪ Na_2HPO_4 (anhydrous)

اگر از Na_2HPO_4 (anhydrous) معادل ۱۰ گرم بردارید و به حجم ۱۰۰ سی‌سی برسانید محلول مورد نظر را تهیه کرده‌اید اما متوجه می‌شویم که Na_2HPO_4 موجود در آزمایشگاه همراه تعدادی مولکول آب است (hydrous).

برای آن که بدانیم چقدر برداریم به روش زیر توجه فرمایید:

۱- وزن مولکول آب را حساب کنید (وزن ملکولی H_2O برابر با ۱۸است).

۲- n (تعداد) مولکول آب را در ۱۸ ضرب کنید.

۳- هر عددی به‌دست آید از MW نوشته شده روی لیبل ظرف (hydrous) کم کنید تا وزن خشک (anhydrous) ماده به‌دست آید.

۴- با استفاده از فرمول بالا تناسب ببندید.

محاسبات مربوط به دانسیته (چگالی)

روی برچسب شناسایی شیمیایی متصل به ظروف اسیدها و بازها، جرم مخصوص یا چگالی ویژه مربوطه درج شده است. چگالی ویژه، دانسیته مواد شیمیایی برحسب گرم در میلی‌لیتر است که با آب مقطر خالص در ۴ درجه سانتی‌گراد سنجیده می‌شود. آب خالص دارای دانسیته یک در ۴ درجه سانتی‌گراد یا یک گرم در میلی‌لیتر آب خالص است. چگالی ویژه عمدتا در مورد اسیدها و بازهای بسیار غلیظ کاربرد دارد. وزن حقیقی اسید یا باز موجود در محلول غلیظی از آن‌ها با ضرب کردن چگالی ویژه در درجه خلوص (درصد) آن ماده محاسبه می‌شود. هر دو این اعداد روی برچسب شناسایی مواد شیمیایی موجود است.

مثال ۱۱-۲: محلول اسید کلریدریک ۳۷٪ با چگالی ویژه (SG) ۱/۱۹ موجود است. حساب کنید چند گرم از این اسید در هر میلی‌لیتر محلول آن موجود است؟

۱/۱۹×۰/۳۷ =۰/۴۴g/ml

منابع مطالعاتی

References:

1. A Manual of Laboratory & Diagnostic ; Frances Fishbach ; Sixth edition ; 2000 ; Lippincott & Wilkins.
2. Clinical Chemistry Concepts & Applications; Shauna C.Anderson, Susan Cockayne; 2003; MCGRAW HILL.
3. Clinical Chemistry Laboratory Management & Clinical Correlations; Kent Lewandkowski; 2002; Lippincott Williams & Wilkins.
4. Clinical Chemistry Principles, Procedures, Correlations ; Michael L.Bishop, Edward P.Fody, Larry Schoeff ; Fifth edition ; 2005 ; Lippincott Williams & Wilkins.
5. Clinical Laboratory Pearls; Steven L.Jones; 2001; Lippincott Williams & Wilkins.
6. Clinical Laboratory Science Review; Robert R.HARR; 2000; Second edition; F.A.Davis Company.
7. Clinician´s Guide to Laboratory Medicine; Samir P.Desai; Third edition; 2004; LEXICOMP.
8. Henry´s Clinical Diagnosis & Management by Laboratory Methods ; Richard A. McPherson, Mathew R.Pincus ; Twenty-First edition ; 2007 ; Saunders.
9. Illustrated Dictionary of Immunology; Julius M. Cruse, Robert E.Lewis; Second edition; 2003; CRC Press.
10. Interpretation of Diagnostic Tests; Jacques Wallach; Seventh edition; 2000; Lippincott Williams & Wilkins.
11. Laboratory Procedures for Medical Office Personal; Craig A. Stepp, Maryann Woods; 1998; W.B.Saunders.
12. Laboratory Tests & Diagnostic Procedures; Cynthia C.Chernecky, Barbara J. Berger; Second edition; 1997; Saunders.
13. Laboratory Test Handbook ; David S.Jacobs, Wayne R.Demotl, Dwight K.Oxley ; Third edition ; 2004 ; Lexicomp.
14. Manual of Clinical Laboratory Immunology ; Noel R.Rose, Robert G.Hamilton, Barbara Detrick ; Sixth edition ; 2002 ; ASM Press.
15. Mosby´s Manual of Diagnostic & Laboratory Test ; Kathleen Deska Pagana, Timothy J.Pagana ; Second edition ; 2002 ; Mosby.
16. Practical Hematology; Dacie & Lewis; Tenth Edition; 2006; Churchill Livingstone.
17. Principles of Clinical Laboratory Utilization & Consultation; Brenta G.Davis, Diana Mass, Michael L.Bishop; 1999; Saunders.
18. Seunders Manual of Clinical Laboratory Science; Craig A.Lehmann; 1998; Saunders.

19. The Science of Laboratory Diagnosis; John Crocker, David Burnett; 1999; ISIS Medical Media.
20. TIETZ Clinical Guide to Laboratory Tests; ALAN H.B.WU; Fourth edition; 2006; Saunders.
21. Essentioal Procedures for Clinical Microbiology; Henry D.Isenberg; 1998.
22. Titetz Textbook of Clinical Chemistry.1999.
23. Zarbo RJ, Gephardt GN, Howanitz PJ. Intralaboratory timeliness of Surgical Pathology reports. Arch Pathology Lab Med. 1996; 120: 234-244.
24. Lewis F, MaughanNJ, Smith V, et al. unlocking the archive: gen expression in Paraffinembedded tissue. J Pathol.2001; 195:66-71.
25. Vincek V, Nassiri M, Nadji M, et al. A tissue fixative that protects macromolecules CDNA. RNA, and protein and histomorphology in Clinical Samples. Lab invests. 2003; 83:1-9.
26. Leong As-Y Microwave fixation and rapid processing in a large throughput histopathology Laboratory. Pathology. 1991; 23:271-273.
27. Kok LP, Boon ME. Ultra rapid Vacuum-microwave histoprocessing. Histochem J. 1995; 27:412-419.
28. Romaguera R, Nassiri M, Morales AR. Tools to facilitate the Standardize grossing. Histologic. 2003; 36:17-21.
29. Essenfeld E. Essenfeld H, Morales A, inventors; university or Miami, assignee. Rapid tissue processor. Us patent 6,207,408.March 27.2001.
30. Azorides R. Morales. MD, Mehdi Nassiri; MD.Rima kanhoush, MD. Vladimir Vincek, MD and Mehrdad Nadji, MD. Experience with an Automated Microware-Assisted Rapid tissue processing Method, American pathology. Feb.2008.
31. Shandon, user Handbook. Shandon scientific limited, England.
32. Calibration and maintenance of semi-automated hematology Equipment 1993.
33. Practical Medical Microbiology; 13th Edition; Mackie and McCartney.
34. A29280 \ Shared DoCs \ Fomalin %20 Recovery %20 in %20 Health %... 2008/02/05.
35. A29280 \ Shared DoCs \ Hazardous %20 Waste %20 reaCtor %20 system 2008/02/05.
36. 2001. Pub: NCCLS. Approved Guideline. Second Edition. M29-A2. Vol.21 No.23 ISBN 1-56238-453-8. Pages: 16-21.

37. (Geneva) WHO. Pages: 11-13.
38. Burtis C.A, Ashwood E.R, TIETZ Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostic, Fourth edition, Saunders, 2006, pp.485-523.
39. Burtis C.A, Ashwood E.R, TIETZ Textbook of clinical chemistry, Third edition, Saunders, 1999, pp3-16.
40. Fraser C.G, Generation and application of analytical goals in laboratory medicine, Ann. 1st. super. Sanita. Vol. 27, N.3 (1991). Pp.369-376.
41. Badrick T, Quality leadership and quality control, Clin Biochem Rev Vol 24 August 2003/pp.81-3.
42. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M. "Current databases on biologic variation: pros, cons and progress." Scand J Clin Lab Invest 1999; 59:491-500.
43. Westgard J. O, QC- THE IDEA, 2000 available from www.westgard.com.
44. Westgard J.O, MULTIRULE AND "WESTGARD RULES": WHAT ART THEY? 2005 available from www.westgard.com.
45. Westgard J.O, "Westgard Rules" Multi role Worksheets, 2006, available from www.westgard.com
46. Barry P.L, QC-THE LEVEY-JENNINGS CONTROL CHART 2000 available from www.westgard.com.
47. NCCLS Document C24-A2 Vol. 19 No. 5 Statistical Quality Control for Quantitative Measurement: Principles and Definitions; Approved Guideline- Second Edition, February 1999.
48. NCCLS Document EP13- R Laboratory Statistic – Standard deviation: A Report, August 1995.
49. NCCLS Document M2-A8.volume 23, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Tests. Approved Guideline, Eighth Edition, 2004.
50. NCCLS Document CO3-A3; Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical laboratory, Approved Guideline. Third ed. 1997.
51. Heuk, El- Nagel, Basic Quality assurance for intermediate and peripheral Laboratories, Second edition, WHO Regional Publication, 2002.
52. Lewis S.M, Quality Assurance in Hematology, WHO/LAB/1998.

53. Guidelines on Standard Operating Procedures for Hematology Microscope- WHO Regional Office for South-East Asia 2007 Last update: 27 April 2006.
54. Bain.B.J, Blood Cells, A Practical Guide, 3rd edition, 2002.
55. NCCLS Document EP12-A Vol. 22 No 14 User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline 2002.
56. Koneman Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology; Fifth Edition; Williams & Wilkins, 1997.
57. Dacie and Lewis Practical Hematology Tenth Edition 2006, 11th edition 2012.
58. Laboratory Safety Update Newsletter, ArizonaStateUniversity, June 5, 2001, Facman @ asu.edu.
59. WHO, maitenance manual for laboratory Equipment, 2th Edition
60. Henry's Clinacal diagnostic and mangment of laboratory medicine, 21th edition
61. Clinical Laboratory Diagnosis and Management by Laboratory Method; Henry, M.D.; 21th edition; 2006.
62. Practical Hematology; Dacie & Lewis; 10th edition; Churchill-Livingston; 2006.
63. Clinical Hematology Theory and Procedures; Mary Louise Turgeon; 4th edition; Lippincott Williams & Wilkins; 2004.
64. Blood Cells a Practical Guide; Barbara, J. Bain; 3th edition; Black Well Science; 2002.
65. Procedure for Determining Packed Cell Volume by Microhematocrit Method; Approved Standard; (CSLI) H7-A3-2006.
66. Document ; Available from www.WHO.net; Chapter 6, 7 & 8.
67. Reference and Selected Procedures for Quantitative Determination of Hemoglobin in blood, (CLSI) H15-A3-2006.
68. Calibration and Quality Control of Automated Hematology Analyzers; Proposed Standard; (CLSI) H38-P-2006.
69. Quality Assurance in Hematology; WHO; 1998.
70. WHO/LAB/92.8.
71. WHO/LAB/98.3.
72. Molecular Pathology Checklist; Laboratory Accreditation Program, The College of American Pathologists (CAP), 2003
73. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics; C A Burtis, et al., 4th edition

74. Commission on laboratory accreditation, hematology coagulation checklist, college of American paitologists, 2007.
75. NCCLS, one stage PT APTT test approved guldline, H49-A (ISBN 1-56238-301-9).
76. NCCLS collection, Transport & processing of blood specineur for testing plasma base coagulation assays, approved guidline, H21-A4 (ISBN 1-56238-S21-6(, 2005.
77. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods; J B Henry, 20th edition
78. Isenberg HD. Essential Procedures for Clinical Microbiology .ASM press USA 1998
79. CLSI 2008-H47-A2
80. Laboratory Technique, in Thrombosis, A manual 2nd revited Edition of ECAT assny procedrs.
81. Mathematics for medical and clinical laboratory profess / mall / J.R. Helms, 2009.
82. PH-متر H:\dr\ref\PH.متر mht

۸۳. سایت‌های اینترنتی مرتبط.

۸۴. جزوات منتشر شده کنترل کیفی تجهیزات توسط آزمایشگاه رفرانس ۱۳۷۸-۱۳۸۱

۸۵. مبانی تضمین کیفیت در آزمایشگاه‌های محیطی و حد واسط ۱۳۷۴ - خانم زهرا حاتمی

۸۶. کتاب جامع تجهیزات و فرآورده‌های آزمایشگاهی – جلد اول و دوم - حمیدرضا سقا و همکاران– سال ۱۳۸۴

۸۷. کتاب کنترل کیفیت در آزمایشگاه‌های بالینی-پیمان محمدی تربتی – سال ۱۳۸۶

۸۸. دستگاه‌های خودکار شمارنده سلولی (اساس‌کار، کالیبراسیون، کنترل کیفیت و خطاها)- دکترپریساداهیم- انتشارات صدا-سال ۱۳۸۸

۸۹. فلیم فتومتری- مقالات علمی فنی مهندسی پزشکی شماره ۱۱۴-فاطمه یاوری

۹۰. مجموعه‌ای از مستندات سیستم مدیریت کیفیت در آزمایشگاه پزشکی – حسین دارآفرین و همکاران – انتشارات نوید – سال ۱۳۸۷.

۹۱. ریاضی، آمار و کنترل کیفی در طب آزمایشگاهی، سیدمهدی کریمی شهیدی، بخش دوم – محاسبات عمومی – موسسه فرهنگی انتشاراتی تیمورزاده – نشرطیب – سال ۱۳۸۱.
۹۲. کنترل کیفیت در آزمایش‌های پزشکی – دکترفریده رضی و همکاران – انتشارات نوید شیراز – ۱۳۸۸.