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 مسعود 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 زهره نوذریان و آقای مهندس امیرحسین بحرالعلومیان که در ویرایش نهایی این مجموعه تلاش وافری داشته‌اند و مجددا از تمامی گروه محترم همکاری به‌ویژه دکترکیومرث احمدی، دکترمینو احمدی‌نژاد، خانم آدم بکانی، دکتر سعید آزاد ارمکی، آقای بابک اسماعیلی، آقای علیرضا اطاعتی، 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، دکترسیدمهدی کریمی شهیدی، آقای مرتضی کهندانی، دکتر فاطمه محجوب، آقای محمدی، دکتر پیمان محمدی‌تربتی، مهندس فرامرز ملک آسا، خانم آزرم نامی، دکتر زهره نوذریان، دکترعبدالرضا وارسته، خانم منیژه وظیفه‌دوست، دکتر بهمن یوسف زاده، هم‌چنین از سرکارخانم سمیه قاسمی‌پور در واژه‌نگاری، از آقایان سیدمحمد وکیل و مهدی نداف‌زاده در واژه‌نگاری و صفحه‌آرایی و خانم منظر عباسپور و آقای حمید خلیلی در تدارکات مجموعه، آقای مسلم عرب باصری در طراحی جلد، مدیریت و کارکنان انتشارات پیام‌رسان به‌ویژه جناب آقای عبدالله طهماسبی در چاپ و انتشار و جناب آقای تبریزی و مدیریت آزمایشگاه مرجع سلامت در تامین اعتبار مالی 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

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 می گردد، 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 می‌بایست 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

شناسنامه تجهیزات به منظور شناسایی هر تجهیز معمولا در یک برگ 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 (Temprature، Steam، Time)**

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 10^6 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 $56\pm1^{\circ}C$ 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 کتابچه راهنمای 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

کالیبراسیون بر اساس توصیه دستگاه و نتایج کنترل کیفی و پس از هر سرویس و زمان راه‌اندازی دستگاه انجام می‌گیرد. 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 - اُون)

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 ۱۸۰°C-۱۶۰ 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 10^6 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 زمان مورد نیاز برحسب دقیقه جهت نابود شدن ۹۰٪ ارگانیسم‌های 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 کتابچه راهنمای دستگاه انجام شود.

ایمنی

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

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 زمان مورد نیاز برحسب دقیقه جهت نابود شدن ۹۰٪ ارگانیسم‌های 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 کتابچه راهنمای 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 (۸°C-۲) 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، فریزر ۷۰- 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.

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، فریزر ۷۰- 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.

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، فریزر ۷۰- 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:

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

- 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 زیر 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.

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/l در اسیدسولفوریک ۰/۱۸M که دارای بیشینه جذب نوری در ۵۶۲ نانومتر است.

۴- محلول سیان متهموگلوبین (۲۰ میکرولیترخون و ۵ml درابکین) که دارای بیشینه جذب نوری در ۵۴۰ نانومتر است.

۵- محلول اکسی هموگلوبین (۵٪ V/V 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 موج ۵۵۰ 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 ۱۰۰۰ cc 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.

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

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

اگر مقادیر Slope به‌دست آمده در محدوده ۱/۰۲- ۰/۹۹۸ و قدر مطلق 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 ارایه 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

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

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

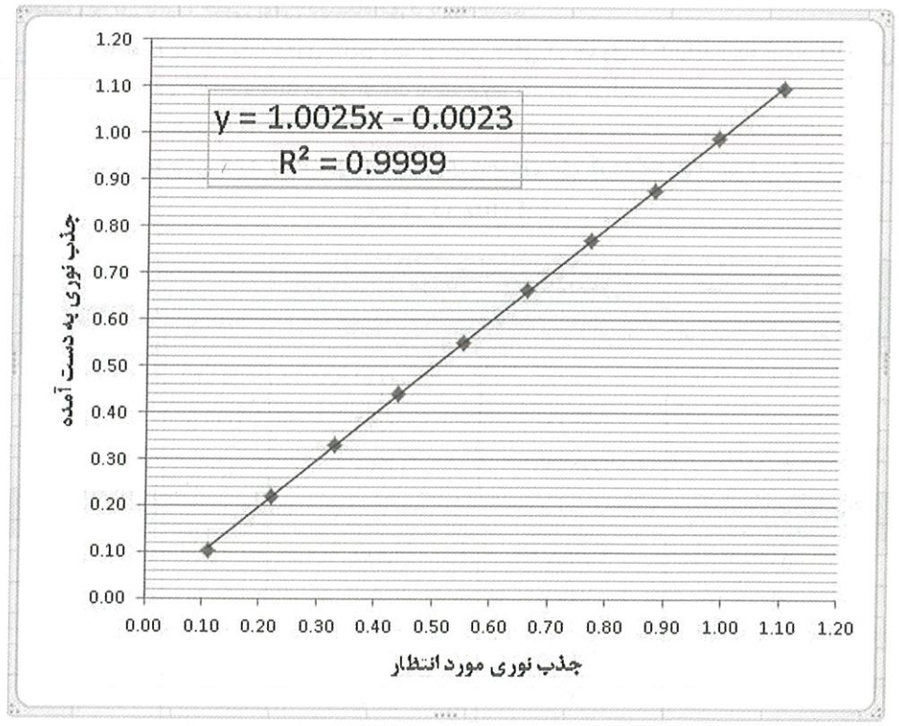
میزان |Bias (٪)| در غلظت ۱۰mg/l = |(۰/۱۰۶-۰/۱۱)| / ۰/۱۱ = |-٪۳/۶| =٪۳/۶

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 به‌دست 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.

نتایج 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 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

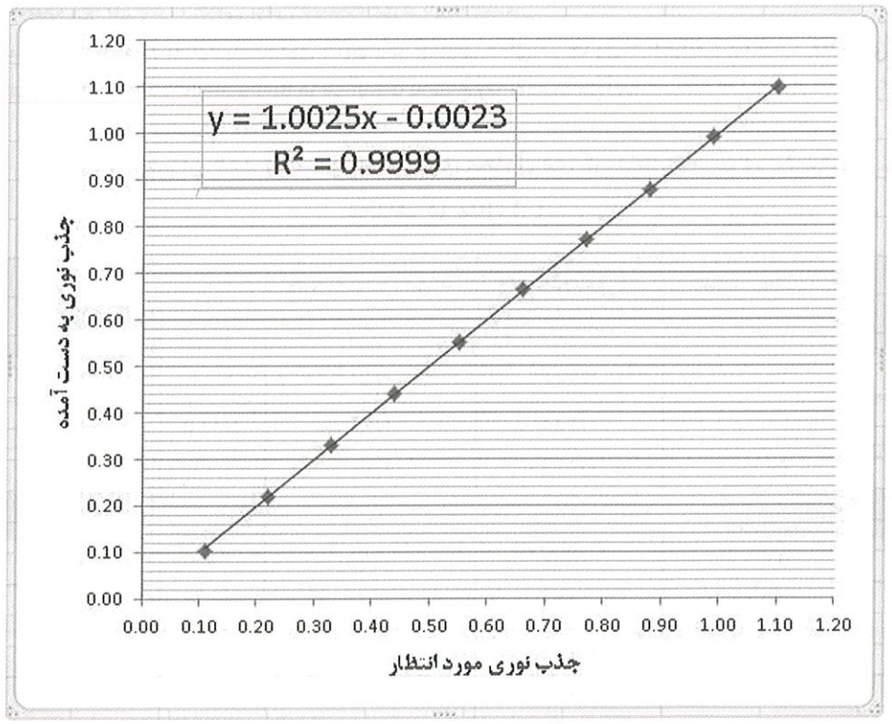
میزان |Bias (٪)| در غلظت ۱۰mg/l = |(۰/۱۰۶-۰/۱۱)| / ۰/۱۱ = |-٪۳/۶| =٪۳/۶

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 به‌دست 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.

نتایج 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 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 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 مکانیکی، 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 به‌طور 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.

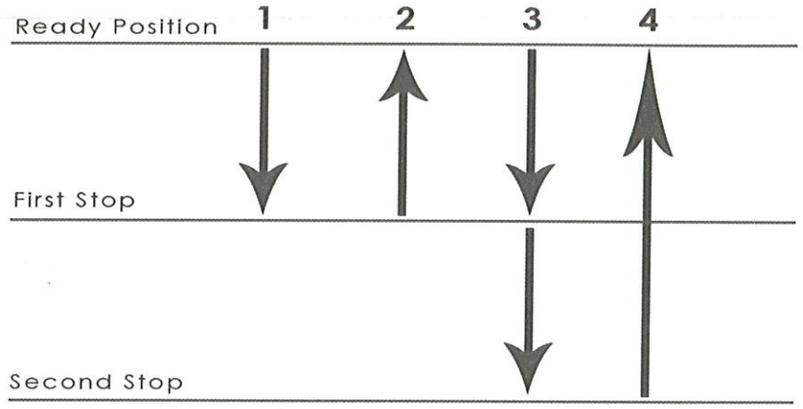
برای ضدعفونی کردن سمپلر استفاده از ایزوپروپانل ۶۰٪ پیشنهاد می‌شود.

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 :

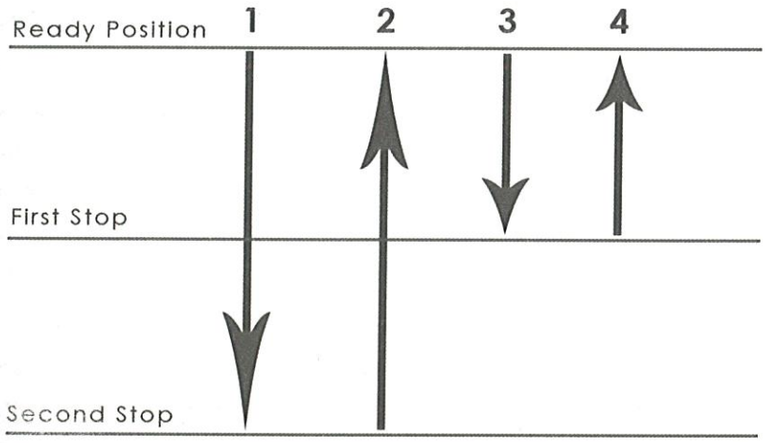
این روش معمول‌ترین روش پیپتینگ می‌باشد که جهت توزیع مایعات همگن با خواص نرمال و چگالی نزدیک به آب استفاده می‌شود (شکل ۱-۱).



شکل ۱-۱: پی‌پت کردن در روش forward

۲- روش repetitive :

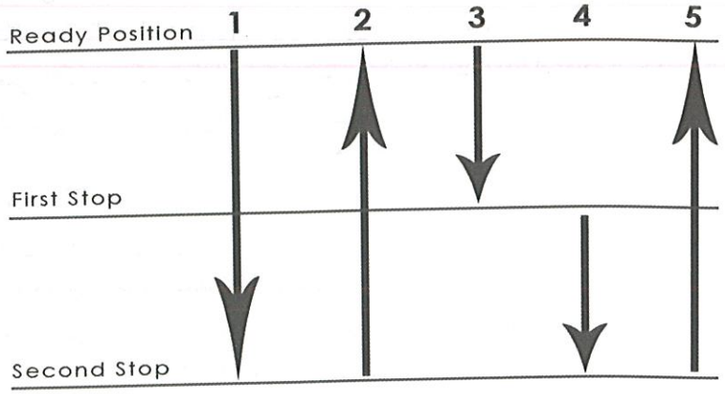
این روش جهت توزیع مایع در حجم‌های یکسان در چند ظرف به‌صورت تکراری استفاده می‌شود (شکل ۲-۱).



شکل ۲-۱: پی‌پت کردن در روش repetitive

۳- روش reverse :

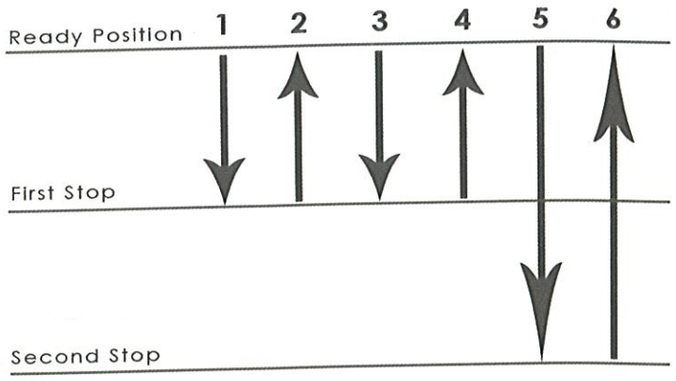
این روش جهت توزیع مایعات با چگالی بیش‌تر از آب، مایعاتی که تمایل به کف‌زایی داشته و یا در برخی موارد در توزیع مایع در حجم‌های بسیار کم توصیه می‌شود (شکل ۳-۱).



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، بایستی ۰/۵۵ باشد. 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. در مراکزی که اطمینان کافی از خلوص پودر و فرآیند محلول سازی دارند می توانند جذب محلول رنگی به‌دست آمده را پس از اعمال ضریب رقت در طول موج ۴۰۵ با عدد ۰/۵۵ مقایسه نموده و میزان خطا را مطابق فرمول عدم صحت محاسبه نمایند. در غیر اینصورت پیشنهاد می گردد جذب محلول رنگی به‌دست آمده در بالن ژوژه (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 شود.

- **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.

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 یا 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، بایستی ۰/۵۵ باشد. 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. در مراکزی که اطمینان کافی از خلوص پودر و فرآیند محلول سازی دارند می توانند جذب محلول رنگی به‌دست آمده را پس از اعمال ضریب رقت در طول موج ۴۰۵ با عدد ۰/۵۵ مقایسه نموده و میزان خطا را مطابق فرمول عدم صحت محاسبه نمایند. در غیر اینصورت پیشنهاد می گردد جذب محلول رنگی به‌دست آمده در بالن ژوژه (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 شود.

- **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
$1\mu l \le V \le 10\mu l$	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲
$10\mu l < V \le 100\mu l$	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۲
$100\mu l < V \le 1000\mu l$	۰/۱	۰/۲	۰/۲
$1ml < V \le 10ml$	۰/۱	۰/۲	۰/۲
$10ml < V \le 200ml$	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 سانتی‌گراد 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.

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
$1\mu l \le V \le 10\mu l$	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲
$10\mu l < V \le 100\mu l$	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۲
$100\mu l < V \le 1000\mu l$	۰/۱	۰/۲	۰/۲
$1ml < V \le 10ml$	۰/۱	۰/۲	۰/۲
$10ml < V \le 200ml$	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 سانتی‌گراد 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	۱/۰۰۴۹	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	پیشینه خطای سیستماتیک مجاز		پیشینه 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 حجمی کالیبراسیون 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 ۱۸۰°C-۱۶۰ 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.

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 حجمی کالیبراسیون 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 ۱۸۰°C-۱۶۰ 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 یک به ده رقیق شده باشد، استفاده نمود.

• جرم‌زدایی ابزار شیشه‌ای

- برای حذف لکه‌های سخت، ظروف را به‌مدت چند ساعت در اسید سولفوکرومیک قرار داده و پس از آب‌کشی مکرر با آب معمولی در نوبت آخر با آب مقطر شست‌وشو دهید.
- 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 کرده (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 نمایید. 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 برموفتالئین 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.

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 زیر 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 (جدول ۴-۱) 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 به حجم

$\bar{v}$، 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.

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.

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 زیر 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 (جدول ۴-۱) 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 به حجم

$\bar{v}$، 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(وAS) و B تقسیم‌بندی می‌شوند. شیشه‌آلات کلاس A(وAS) 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 به حجم

$\bar{v}$، 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 به‌کار برده 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:

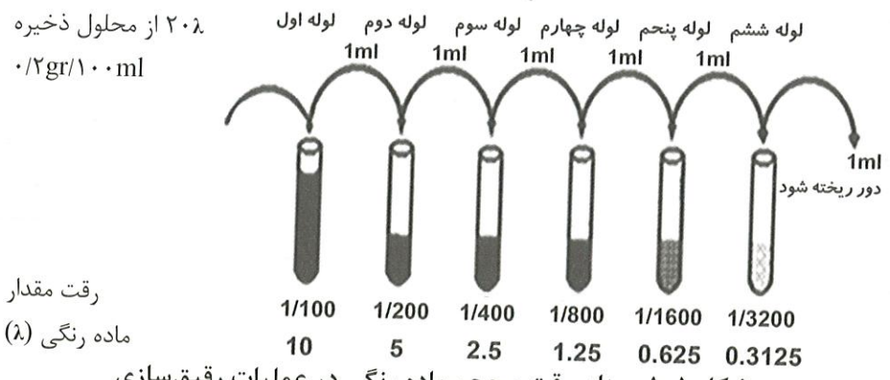
حجم سمپلر / میانگین جذب سمپلر = حجم لوپ/ میانگین جذب لوپ

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 عبارتند از:

- 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/۱۰۰ml 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/۱۰۰ml) 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 به‌طور 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. به‌طور 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 به‌صورت 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 افزودن 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 به‌کار 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 دوپرتویی 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 در هر 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 مورد انتظار-عدد بدست آمده)} = 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**

کنترل رانش یا عدم پایداری در قلیم فتومتر 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 را خاموش نمایید.

دستورالعمل فنی دستگاه ISE

کلیات

در روش ISE (Ion Selective Electrode) الکترودهایی به‌کار گرفته می‌شوند که در واقع نوعی سنسور الکتروکمیکال می‌باشند. این نوع الکترودها فعالیت یونی موجود در مایعات بدن را به پتانسیل الکتریکی تبدیل می‌نمایند. این پتانسیل الکتریکی به کامپیوتر دستگاه انتقال یافته و پس از تحلیل و بررسی به صورت عدد گزارش می‌شود.

ISEs دارای یک ممبران (غشاء) جدا کننده، یک محلول رفرانس و یک الکترود رفرانس از محلولی هستند که باید آنالیز شود.

ساختار ISE وابسته به ترکیبات ممبران است، در واقع قسمت اصلی الکترود، غشاء آن می‌باشد. غشاء الکترود از یک طرف در تماس با نمونه و از طرف دیگر در تماس با محلول پرکننده الکترود است. غشاءهای مختلف به یون‌های مختلف حساس هستند برای مثال غشاء الکترود سدیم فقط یون سدیم و غشاء الکترود پتاسیم فقط یون پتاسیم را از خود عبور می‌دهد.

انواع ISEs دارای انواع الکترود از جمله الکترود glass، Liquid membrane، Solid-state، gas electrode و .... می‌باشند.

نحوه کاربری

نحوه کاربری هر دستگاه براساس مندرجات کتابچه راهنمای کارخانه سازنده بایستی به‌کار گرفته شود.

نحوه نگه‌داری

نحوه نگه‌داری براساس مدل‌های دستگاه‌ها تا حدودی متفاوت می‌باشد. در زیر نحوه نگه‌داری به صورت مشترک و کلی آورده شده است. بدیهی است مراجعه به کتابچه راهنمای دستگاه برای دستیابی به جزییات نگه‌داری الزامی است.

* **نگه‌داری روزانه**

۱- Cleaning: برای تمیز کردن مسیرها، جلوگیری از رسوب محلول‌ها در مسیر تیوب‌ها، آماده سازی الکترودها جهت اندازه‌گیری صحیح انجام می‌شود و جهت این امر استفاده از محلول Cleaning و Conditioner توصیه می‌شود. لازم به ذکر است این کار قبل از هر سری کاری و قبل از کالیبراسیون بایستی انجام شود.

۲- کالیبراسیون دو نقطه‌ای با کالیبراتور مجاز هر دستگاه الزامی است. کالیبراسیون می‌تواند به روش دستی یا به صورت اتوماتیک انجام شود.

*** نگه‌داری هفتگی**

۱- کنترل هفتگی محلول داخل الکترود

۲- پاک کردن رسوب نمک روی قاب الکترودها

۳- تمیز کردن سطح روی سوزن نمونه گیر و قسمتی که سوزن نمونه گیر درون آن قرار می‌گیرد.

*** نگه‌داری ماهانه**

تلفیقی از نگه‌داری روزانه و تمیز کردن محل الکترودها می‌باشد که باید طبق پیشنهاد شرکت سازنده انجام شود.

*** نگه‌داری ۶ ماهه**

۱- تعویض تیوب دور پمپ

۲- جنرال سرویس

کنترل کیفی

کنترل داخلی کیفیت مطابق با برنامه مشابه برای سایر پارامترهای بیوشیمی انجام می‌شود.

نکات مهم در کار با دستگاه

•• بیش‌تر دستگاه‌های ISE برای کارکرد به صورت ۲۴ ساعته طراحی شده‌اند. بعد از هر بار خاموش کردن مدتی طول می‌کشد تا دو باره به حالت پایدار برسد. بنابراین از روشن و خاموش کردن مکرر خودداری شود زیرا می‌تواند باعث کاهش طول عمر الکترودها شود.

•• استفاده از کالیبراتور و کنترل‌های سایر دستگاه‌ها از جمله فلیم فتومتر باعث آسیب به الکترودها و نتایج اشتباه می‌شود.

•• نمونه سرم جهت انجام تست بایستی بدون فیبرین و حباب باشد.

•• در صورتی که pH محلول‌هایی که به دستگاه داده می‌شود خارج از محدوده باشد باعث اختلال در اندازه‌گیری یون‌ها می‌شود.

•• در صورت مشاهده ناخالصی یا قارچ در محلول‌ها و استانداردهای دستگاه، بایستی آن‌ها دور ریخته شوند.

•• همولیز باعث تغییر زیاد در سنجش یون پتاسیم می‌شود.

•• وجود فیبرین در سرم باعث انسداد پروب و یا رسوب پروتئین در تیوب‌های دستگاه می‌شود.

•• نمونه‌های جمع‌آوری شده در عرض ۲ ساعت سنجش شوند.

•• تمامی مایعات که به دستگاه داده می‌شود اعم از نمونه، استاندارد یا کالیبراتور بایستی به دمای اتاق برسد در غیر این صورت به الکترودها آسیب می‌رسد.

•• بیش‌تر دستگاه‌های ISE دارای پک مصرفی شامل دو استاندارد جهت کالیبراسیون، محلول رفرانس، محلول Cleaning و محلول Conditioner می‌باشند.

نکات مهم در ارتباط با نمونه

•• بیش‌تر دستگاه‌های ISE قادر به اندازه‌گیری سدیم، پتاسیم و کلر در سرم، پلاسما، خون و ادرار هستند. از مزایای این روش، حجم کم نمونه، زمان پاسخ‌دهی کوتاه و اختصاصی بودن اندازه‌گیری می‌باشد.

•• نمونه مورد بررسی برای انجام آزمایش شامل سرم، پلاسما هپارینه، خون کامل هپارینه و ادرار می‌باشد. لازم به ذکر است که در صورت اندازه‌گیری با نمونه خون کامل، در اسرع وقت نمونه باید به دستگاه داده شود، زیرا تاخیر در انجام کار باعث لیز RBCها و افزایش کاذب پتاسیم می‌گردد.

•• در صورت تاخیر در انجام نمونه‌های سرم و پلاسما، نمونه برای مدت کوتاه در یخچال نگه‌داری شود ولی حتما قبل از انجام آزمایش بایستی به دمای اتاق برسد و در صورتی که در نمونه پلاسما تاخیری بیش از یک ساعت تا انجام آزمایش اجتناب‌ناپذیر است، بایستی مجددا نمونه سانتریفیوژ شود.

•• در نمونه ادرار تهیه رقت مناسب با رقیق کننده توصیه شده توسط شرکت الزامی است.

ایمنی و شرایط محیطی مناسب جهت نصب دستگاه

•• دستگاه روی میز محکم پایدار و بدون لرزش نصب شود.

•• محیط دستگاه تا حد امکان بدون گرد و غبار و گاز خورنده و دور از تداخل امواج الکترومغناطیسی باشد.

•• از قرار دادن دستگاه در مقابل آفتاب یا منبع تولید گرما و سرما خودداری شود.

•• دمای محیط بین ۳۵-۱۵ درجه سانتی‌گراد بوده و رطوبت هوا کمتر از ۸۵٪ 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 شود.
- سیستم برق دستگاه دارای سیم اتصال به زمین مناسب (ارت‌دار) باشد.

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

یک لام (با لامل) روی صفحه لام قرار 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.

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

یک لام (با لامل) روی صفحه لام قرار 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 (غوطه‌وری)

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 در 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 به‌صورت 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 خودکار 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 (به عبارتی و با اغماض می‌توان تفاوت ارتفاع بین لوله‌ها را که چشم طبیعی قادر به تمیز دادن آن نباشد را در نظر گرفت). 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 ±

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 به‌صورت 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 خودکار 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 (به عبارتی و با اغماض می‌توان تفاوت ارتفاع بین لوله‌ها را که چشم طبیعی قادر به تمیز دادن آن نباشد را در نظر گرفت). 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.

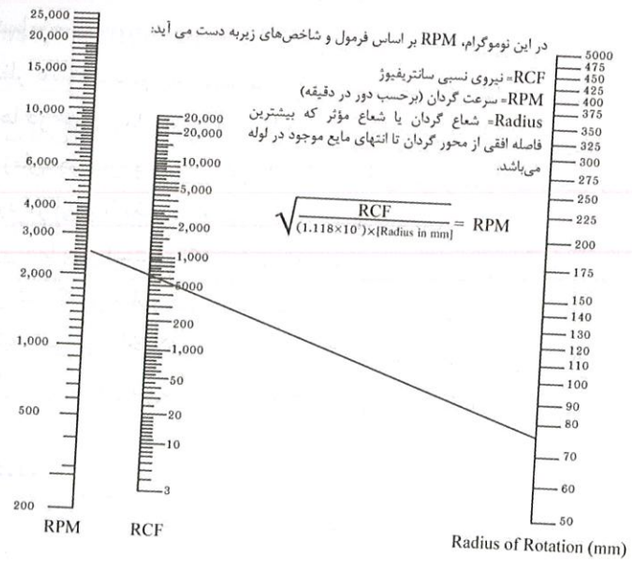
۴- دکمه اندازه‌گیری تاکومتر را فشار دهید.

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 را 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 °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 مایکروویو 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 به‌طور 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) زوایه 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.	۸-۵
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 با کتابچه راهنمای 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 مرجع (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 سانتی‌متر 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 میکروزیمنس بر سانتی‌متر) انجام می‌گیرد. برای رسانایی بالاتر از ۰/۵ میکروزیمنس بر سانتی‌متر، بهتر است از محلول‌های استاندارد توصیه شده توسط شرکت سازنده استفاده شود.

نکته: محلول‌های استاندارد معمول موجود در بازار معمولا محلول‌های ۱۴۷ میکروزیمنس بر سانتی‌متر، ۱۴۱۳ میکروزیمنس بر سانتی‌متر و ۱۲/۸۸ میلی زیمنس بر سانتی‌متر می‌باشند در صورت کالیبراسیون تک نقطه‌ای معمولاً از محلول استاندارد ۱۴۱۳ میکروزیمنس بر سانتی‌متر استفاده می‌شود. در کالیبراسیون چند نقطه‌ای به ترتیب از محلول استاندارد با هدایت کمتر شروع و با محلول هدایت بیش‌تر خاتمه می‌یابد.

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 شمارش گلبول‌های 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:

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

- **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

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

$\sum d = -۳$ $\qquad (\sum d)^2 = ۹$

$\sum d^2 = ۹۱$ $\qquad \bar{d} = \sum d / ۵ = -۳/۵ = -۰/۶$

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

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 (میانگین متحرک)
- 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 بر اساس 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
1_{2s}: یک کنترل خارج از محدوده ۲SD±	**هشدار**، لزوم بررسی سایر قوانین
1_{3s}: یک کنترل خارج از محدوده ۳SD±	**رد نتایج**، نشاندهنده خطای تصادفی یا شروع خطای سیستماتیک
2_{2s}: دوخوانده متوالی همسو و خارج از محدوده ۲SD±	**رد نتایج**، نشان دهنده خطای سیستماتیک
R_{4s}: یک خوانده خارج از محدوده ۲SD+ و دیگری خارج از محدوده ۲SD-	**رد نتایج**، نشانگر خطای راندوم
4_{1s}: ۴ خوانده متوالی و همسو، خارج از محدوده ۱SD+ یا ۱SD-	**رد نتایج**، نمایانگر خطای سیستماتیک
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 هر اقدامی باید از عدم آلودگی یا خرابی محلول‌های مورد استفاده و نمونه کنترل اطمینان حاصل نمود. در صورت اطمینان از این امر پیش از برنامه‌ریزی برای کالیبراسیون دستگاه، باید اقدامات دیگری مانند شست‌وشوی دستگاه، آزمایش مجدد نمونه، آزمایش بر روی نمونه خون کنترل دیگری با همان سری ساخت، بررسی وضعیت محلول‌های 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×)	تعداد تخمینی گلبول‌های سفید ($\times 10^9$)		میانگین تعداد پلاکت‌های شمارش شده در هر میدان دید با بزرگنمایی زیاد (دید روغن ×۱۰۰)	تعداد تخمینی پلاکت‌ها ($\times 10^9$)
۳-۲	۷-۳		۳-۲	۱۰۰-۵۰
۶-۴	۱۰-۷		۶-۴	۱۵۰-۱۰۰
۱۰-۷	۱۳-۱۰		۱۰-۷	۲۵۰-۱۵۰
۲۰-۱۱	۱۸-۱۳		۲۰-۱۱	۵۰۰-۲۵۰

- **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 ۲SD (و یا ۲CV)، 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^2
	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 $\frac{2(X1-X2)}{X1+X2} \times ۱۰۰$) 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 توضیحات 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_1=۱۰۳-۹۸=۵

دوتایی دوم: ۱۵۰ و ۱۵۷ d_2=۱۵۷-۱۵۰=۷

دوتایی سوم: ۵۰ و ۵۶ d_3=۵۶-۵۰=۶

برای دو تایی اول مقدار d_1=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 $D_1=100\times\frac{2(X1-X2)}{X1+X2}$=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_2=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 $D_2=100\times\frac{2(X1-X2)}{X1+X2}$=۴/۷ می‌باشد که از ۲CV=۵ کمتر و قابل قبول است. یعنی این‌که اگر در این حالت از روش SD استفاده می‌کردیم، جواب قابل قبول رد می‌گردید. اما در دوتایی سوم مقدار ۶/۷= ۲SD>۶= d_3 و ۲CV<۱۱/۳= D_3 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 در صورت 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 بررسی قرار 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 برای شمارش گلبول‌های قرمز و سفید کاربرد دارد ولی 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

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 $d_1=103-98=5$

دوتایی دوم: ۱۵۰ و ۱۵۷ $d_2=157-150=7$

دوتایی سوم: ۵۰ و ۵۶ $d_3=56-50=6$

برای دو تایی اول مقدار $d_1=103-98=5$ می‌باشد که این مقدار از $2SD=6/7$ کمتر است و جواب قابل قبول خواهد بود. هم‌چنین در صورت استفاده از CV مقدار $D_1=100\times\frac{2(X1-X2)}{X1+X2}=4/99$ که از $2CV=5\%$ کمتر است بنابراین، این دوتایی در هر دو روش قابل قبول می‌باشد.

اما در مورد دوتایی دوم مقدار $d_2=157-150=7$ که در صورت استفاده از SD این مقدار از $2SD=6/7$ بیشتر است که در صورت استفاده از روش 2SD، این دوتایی غیرقابل قبول است. اما در صورت استفاده از CV، مقدار $D_2=100\times\frac{2(X1-X2)}{X1+X2}=4/7$ می‌باشد که از $2CV=5$ کمتر و قابل قبول است. یعنی این‌که اگر در این حالت از روش SD استفاده می‌کردیم، جواب قابل قبول رد می‌گردید. اما در دوتایی سوم مقدار $6<2SD=6/7$ و $d_3=6$ و $D_3=11/3>2CV$ 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 در صورت 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 بررسی قرار گرفته که اختلاف نتایج در محدوده 2SD (یا 2CV) 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 برای شمارش گلبول‌های قرمز و سفید کاربرد دارد ولی 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 $\pm SD$ 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 (2SD) 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 (ضریب تغییرات) 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 و کنترل 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 45° 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		$\sum(x-\bar{x})^2$=۰/۲۰۱
$\bar{x}$= ۷/۶۳		

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

$$SD = \sqrt{۰/۲۰۱ / ۹} = ۰/۱۴۸$$

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

$$CV = (۰/۱۴۸ / ۷/۶۳) \times ۱۰۰ = ٪۱/۹$$

• 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

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 (ضریب تغییرات) 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 و کنترل 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	۰/۰۰۰۹
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

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

$$SD = \sqrt{۰/۲۰۱ / ۹} = ۰/۱۴۸$$

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

$$CV = (۰/۱۴۸ / ۷/۶۳) \times ۱۰۰ = ٪۱/۹$$

• 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 ایزوتونیک خطای رقیق سازی را کاهش 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.

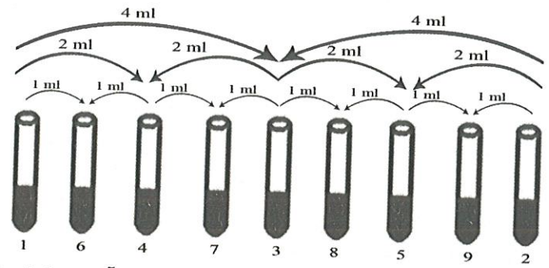
یکی از اشکالات عمده در این روش، اشکال در تهیه رقت دوم و سوم به دلیل عدم برداشت مناسب و درست از نمونه غلیظ (RBC و بافی‌کوت) به‌دلیل غلیظ بودن آنهاست. به همین دلیل روش سوم به‌عنوان روش کاربردی پیشنهاد شده است.

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 نمایید. سپس ۱ میلی‌لیتر از لوله شماره ۱ و ۴ در لوله شماره ۶ و همین حجم (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 ۲SD± تا ۳SD± 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

- **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 ۲SD± تا ۳SD± 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	نگه‌داری نامناسب دستگاه استفاده از منبع برق نامناسب عدم استفاده از سیم ارت مناسب 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 دارای سیم اتصال به زمین مناسب (ارت‌دار) باشد.

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 دارای سیم اتصال به زمین مناسب (ارت‌دار) باشد.

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 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

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 ثانیه 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 (18°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.