

نکات فنی دستگاه ها در آزمایشگاه پزشکی؛ سمپلر (میکروپی پت)

برای ضد عفونی کردن سمپلر استفاده از ایزوپروپانل ۶۰٪ پیشنهاد می شود.

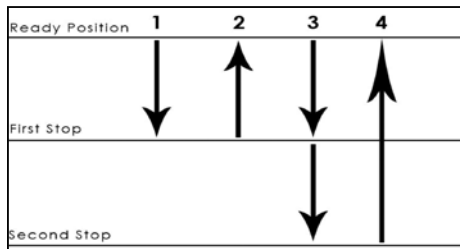
جهت سترونسازي سمپلر حتما به کتابچه راهنمای سمپلر مراجعه کرده و اصول استاندارد سترون سازی را رعایت کنید.

انواع روش های پیپتینگ (پیپت کردن)

روش forward

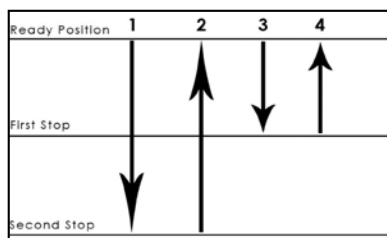
این روش معمول ترین روش پیپتینگ است که جهت توزیع مایعات همگن با خواص نرمال و چگالی نزدیک به آب استفاده می شود (شکل ۱).

شکل ۱: پیپت کردن در روش forward



روش Re-petitive

این روش جهت توزیع مایع در حجم های یکسان در چند ظرف به صورت تکراری استفاده می شود (شکل ۲).



شکل ۲: پیپت کردن در روش repetitive

کلیات

سمپلر برای انتقال حجم های کم نمونه با دقت و صحت بالا مورد استفاده قرار می گیرد. سمپلرها به عنوان میکروپی پت (TD) To Deliver کالیبر شده اند و نیازی به شست و شوی آنها در محلول دریافت کننده وجود ندارد.

چگونگی کاربری

بر طبق دستورالعمل مندرج در کتابچه راهنمای سمپلر انجام می شود.

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
- ✓ ۱-۳ ثانیه تامل پس از فشار تا توقف اول در زمان تخلیه محلول، ضمن تماس با جداره

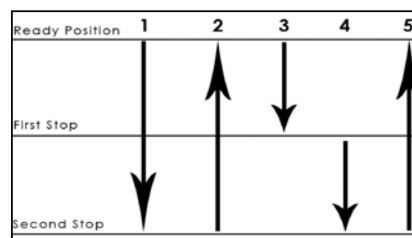
نحوه نگهداری

نگهداری دوره ای: شامل شست و شو و کنترل کیفی سمپلر است. شست و شو سالی دو بار و قبل از انجام مراحل کنترل کیفی انجام می شود و برای تمیز کردن قسمت های داخلی است که بر اساس روش موجود در راهنمای سمپلر انجام می گیرد.

توجه به این نکته لازم است که پیستون پس از شست و شو باید با مقدار کمی از روغن مخصوص سمپلر روغن کاری شود. در صورت لزوم تمامی قسمت های خارجی را می توان با محلول آب و صابون تمیز و پس از آب کشی در دمای اتاق خشک کرد.

روش reverse

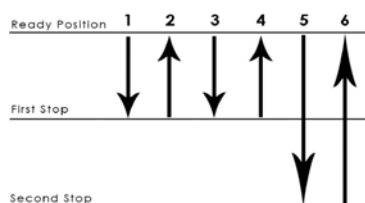
این روش جهت توزیع مایعات با چگالی بیشتر از آب، مایعاتی که تمایل به کفزیایی داشته و یا در برخی موارد در توزیع مایع در حجم های بسیار کم توصیه می شود (شکل ۳-۱).



شکل ۳: پیمت کردن در روش reverse

روش توزیع محلول های ناهمگن (مانند خون)

این روش برای محلول های ناهمگن مثل خون کاربرد دارد و همان طور که در شکل ۴ دیده می شود در ابتدا محلول (خون) چندین بار تا مرحله اول داخل و خارج می شود، سپس حجم مورد نیاز برداشت می شود.



شکل ۴: پیمت کردن در روش توزیع محلول های ناهمگن

غلظت در محلول های ذخیره به گونه ای انتخاب شده که محلول ۱۵۵ میلیگرم درصد پس از رقیق شدن به نسبت ۱/۱۰۱ و محلول ۱۵۰/۵ میلیگرم درصد پس از رقیق شدن به نسبت ۱/۱۱، جذبی حدود ۰/۴ داشته باشند.

✓ محلول پارانیتروفنل

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

Art.6798 MERCK, Paranitrophenol
(C₆H₅NO₃), indicator pH (5.4-7.5),

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

◀ سمپلرهای با حجم کمتر از ده میکرولیتر: برای تهیه محلول ذخیره، ۴۲۰ میلی گرم 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 می شود.

▪ کنترل صحت: در بالن ژوژه ۱ لیتری، ۱ میلی لیتر از محلول ذخیره به ۱۰۰۰ میلی لیتر سود ۰/۰۱ نرمال اضافه می شود.

◀ سمپلرهای با حجم ۱۰-۱۰۰ میکرولیتر: برای تهیه محلول ذخیره، ۴۲ میلی گرم پارانیتروفنل در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل می شود.

▪ کنترل دقت: در ده لوله آزمایش بسته به نوع سمپلر رقت ۱/۱۰۱ از محلول ذخیره در سود ۰/۰۱ نرمال تهیه می شود.

▪ کنترل صحت: در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتری، ۱ میلی لیتر از محلول ذخیره به ۱۰۰ میلی لیتر سود ۰/۰۱ نرمال اضافه می شود.

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

▪ کنترل دقت: در ده لوله آزمایش بسته به نوع سمپلر رقت ۱/۱۱ از محلول ذخیره در سود ۰/۰۱ نرمال تهیه می شود.

▪ کنترل صحت: در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتری، ده میلیلیتر از محلول ذخیره به ۱۰۰ میلی لیتر سود ۰/۰۱ نرمال اضافه می شود. جذب نوری این محلول ها پس از اعمال ضریب رقت در طول موج ۴۰۵ نانومتر حدود ۰/۵۵ خواهد بود. فتومتر با آب مقطر یا سود صفر می شود.

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 می پذیرد.

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

روش رنگ سنجی

✓ رنگ سبز خوراکی

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

• کنترل صحت

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

• کنترل دقت

ده لوله چیده میشود و محلول ذخیره رنگی متناسب با حجم سمپلر مورد نظر برای کنترل انتخاب میگردد (مثلا برای سمپلرهای با حجم ۱۰۰-۱۰۰۰ 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 خوانده می‌شود. 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.

♦ 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 ۱ آورده شده، انجام می‌گیرد.

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

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

محدوده دمایی قابل قبول آزمایشگاه جهت کنترل کیفی به روش توزین ۱۵ تا ۳۰ درجه سانتیگراد است.

تعدادی نوک سمپلر نو و مناسب، مقداری آب مقطر یکبار تقطیر و یک دماسنج ۱/۰ 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:

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

✓ یک نوک سمپلر نو و مناسب به سمپلر متصل کرده، سمپلر را در صورتیکه 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.

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

✓ ترازو را صفر کنید.

✓ مراحل ۲ تا ۴ را ۹ بار دیگر تکرار کنید تا مقادیر $m_0, m_1, m_2, \dots, m_9$ به دست آید.

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

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

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

✓ فاکتور تبدیل جرم به حجم (Z) را از جدول ۲ استخراج کنید.

✓ مقادیر v_1 تا v_0 را با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه کنید:

$$\bar{v} = \bar{m} \cdot Z$$

$$v_i = m_i \cdot Z$$

✓ 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.

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

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

یادآوری - مقادیر % بر حسب میکرو لیتر بر میلی گرم می باشد.

جدول (۲) فاکتور تبدیل جرم به حجم (Z) براساس فشار و دما

✓ مقادیر Bias و CV به دست آمده را با مقادیر پیشینه مجاز (جدول ۳) 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 پیشینه خطای سیستماتیک (Bias) و تصادفی (CV) مجاز بر حسب μl و درصد بیان شده است.

حجم نامی μl	پیشینه خطای تصادفی مجاز		پیشینه خطای سیستماتیک مجاز	
	$\pm\mu\text{l}$	$\pm\%$	$\pm\mu\text{l}$	$\pm\%$
۱	-۰/۰۵	۵/۰	-۰/۰۵	۵/۰
۲	-۰/۰۴	۲/۰	-۰/۰۸	۴/۰
۵	-۰/۰۷۵	۱/۵	-۰/۱۲۵	۲/۵
۱۰	-۰/۰۸	۰/۸	-۰/۱۲	۱/۲
۲۰	-۰/۱	۰/۵	-۰/۲	۱/۰
۵۰	-۰/۲	۰/۴	-۰/۵	۱/۰
۱۰۰	-۰/۳	۰/۳	-۰/۸	۰/۸
۲۰۰	-۰/۶	۰/۳	-۰/۶	۰/۸
۵۰۰	-۱/۵	۰/۳	-۴/۰	۰/۸
۱۰۰۰	-۳/۰	۰/۳	-۸/۰	۰/۸
۲۰۰۰	-۶/۰	۰/۳	-۱۶	۰/۸
۵۰۰۰	-۱۵/۰	۰/۳	-۴۰	۰/۸
۱۰۰۰۰	-۳۰/۰	۰/۳	-۶۰	۰/۶

جدول (۳) مقادیر پیشینه خطای مجاز (Bias و CV) قابل قبول در حجم نامی سمپلر

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

✓ در صورتی که دقت یا صحت سمپلر غیر قابل 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 ویژگی ها 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 نیست، معیارهای مورد تایید آزمایشگاه مرجع سلامت در این خصوص دامنه گستردهتری را پوشش می دهد که آزمایشگاه ها 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 می شود.

ایمنی و نکات مهم

- ضربه به سمپلر می تواند این وسیله را از کالیبراسیون خارج نماید.
- مایع نباید وارد قسمت های داخلی سمپلر شود، همیشه از نوک سمپلر مناسب با حجم برداشتی استفاده شود.
- تماس دست با نوک سمپلر آلوده ممنوع است.
- در صورت مکش محلول های اسیدی و سایر محلول های خورنده باید بخش نگهدارنده سر سمپلر (Tip holder) باز شده و پیستون و حلقه پلاستیکی (O-ring) به خوبی 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.