

نگاهی فنی به سانتریفیوژ

Axial Separation

در این نوع سانتریفیوژ لوله حاوی خون، ابتدا در وضعیت عمودی قرار داده می شود. لوله ها مجهز به یک صفحه جداکننده متحرک پلاستیکی است، در هنگام چرخش لوله ها به صورت 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 گلبول ها جدا می شود. کل مراحل کمتر از ۷۰ ثانیه طول می کشد.

اولترا سانتریفیوژ

سانتریفیوژهایی با سرعت بالا بوده که نیروی کششی (g) در حد صدها هزار تولید میکند. اغلب آنها fixed-head است. در آزمایشگاه بالینی بیشتر برای جداسازی لیپوپروتئین ها و در بانک خون به کار می رود. 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 کاملاً افقی در وسط سکو یا میز آزمایشگاهی (دور از لبه ها) قرار گیرد. لوله ها به طور موازنه (از نظر وزنی) مقابل هم در داخل جایگاه لوله ها (Bucket) قرار گیرد. توسط پیچ مخصوص ساعت، زمان لازم و پیچ مخصوص گردش، دور لازم به دستگاه داده می شود و با فشار دکمه start دستگاه شروع به کار کرده و پس از پایان به طور خودکار خاموش خواهد شد. برای جدا کردن سرم می توان از قدرت g-۱۰۰۰ به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه استفاده کرد. به منظور جلوگیری از بروز همولیز باید از سانتریفیوژ نمونه های خونی به مدت طولانی پرهیز کرد.

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 است از هم جدا می کند، لذا در تهیه ته نشین ادرار، جدا کردن سرم، تهیه فیلترای فاقد پروتئین و موارد دیگر از آن استفاده می شود. در انتخاب سانتریفیوژ مقدار (Relative Centrifugal Force (RCF) مهم است. انواع مختلفی از سانتریفیوژ در بازار موجود است که چهار مدل اصلی آن عبارتند از:

Horizontal Head (Swinging Bucket)

لوله ها در حالت استراحت به صورت عمودی در جایگاه قرار داده می شود و در طی چرخش، لوله ها در وضعیت افقی قرار می گیرد. این نوع برای جداسازی سرم و پلاسما از گلبول های قرمز مناسب است. در صورت کاربرد دور و زمان لازم، سدیمان به خوبی فشرده شده و میتوان سوپرناتانت را با آهسته خالی کردن (سرازیر کردن آهسته) خارج کرد.

Angle Head (Fixed-Head)

لوله ها در وضعیت ثابت و در زاویه حدود ۴۰-۲۵ درجه از وضعیت افقی قرار می گیرد، ذرات در هنگام چرخش به سمت بیرون پرتاب شده و به کناره و ته لوله می چسبند. شکل آیرودینامیکی دستگاه به صورتی است که نسبت به نوع افقی امکان ته نشین شدن سریع ذرات ریز را فراهم می کند. با این حال سدیمان از فشردگی کمتری برخوردار است. این نوع، می تواند سرعت بیشتری نسبت به نوع افقی داشته باشد ولی مقاومت قابل ملاحظه در مقابل چرخش و اصطکاک با هوا، در آن گرما تولید می کند.

خطکش و برچسب مخصوص استفاده می شود. کنترل دور سانتریفیوژ معمولاً هر ماه ضروری است.

توسط تاکومتر، RPM را به دو طریق نوری و تماسی می توان بدست آورد. مراحل انجام اندازه گیری RPM توسط تاکومتر به روش نوری به شرح زیر است.

✓ ابتدا کاغذ منعکس کننده (Indicator) را که همراه دستگاه تاکومتر است، نزدیک محور سانتریفیوژ بچسبانید.

✓ سانتریفیوژ را در دور مشخص تنظیم کرده و آن را روشن کنید.

✓ تاکومتر را در حدود ۵۰ تا ۱۵۰ میلیمتری محور سانتریفیوژ قرار دهید.

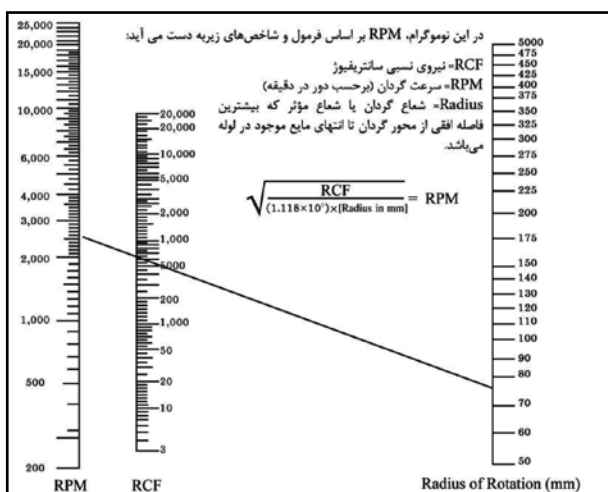
✓ دکمه اندازه گیری تاکومتر را فشار دهید.

✓ 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 است.

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

برای اندازه گیری شعاع سانتریفیوژ از محور تا جایگاه لوله ها را با خط کش اندازه گیری کنید که در سانتریفیوژ افقی باید از مرکز تا آخر جایگاه لوله اندازه گیری شود.

همان طور 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، به دست آورید، می توان با استفاده از نمودار ۱ این کار را انجام داد.



نمودار ۱: نمودار تعیین RPM براساس شعاع و نیروی نسبی سانتریفیوژ

نکته: در مورد حجم مجاز مایع در لوله ها در حین تراز کردن آنها در مقابل هم به بروشور دستگاه مراجعه شود، اما به طور معمول اختلاف وزن آنها نباید بیش از ۱٪ باشد. در سانتریفیوژهای جدید در صورت عدم بالانس لوله ها، سرعت به صورت خودکار کاهش می یابد 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 (ترجیحاً 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 می پردازیم. لازم به ذکر است که سرعت دستگاه و زمانسنج آن باید در شرایط مشابه بررسی شود و در صورت تغییر قابل توجه در آنها با شرکت پشتیبان تماس حاصل شود.

محدوده مجاز تغییرات به صورت زیر است:

اختلاف دور $\pm 0.5\%$ ، اختلاف زمان $\pm 1.0\%$ ، اختلاف دما $\pm 2^{\circ}\text{C}$

اندازه گیری دور در دقیقه

هدف از اندازه گیری دور در دقیقه سانتریفیوژ، محاسبه نیروی نسبی سانتریفیوژ است که بستگی مستقیم به تعداد دور در دقیقه دارد. نیروی نسبی سانتریفیوژ (RCF) از فرمول زیر و یا با کمک نمودار ۱-۲ به دست می آید.

$$RCF(g) = 1/118 \times 10^{-2} \times r \times (RPM)^2$$

RCF: نیروی نسبی سانتریفیوژ (Relative Centrifugal Force)

۲: 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 به طور دقیق محاسبه کنید.

برای اندازه گیری واقعی دور سانتریفیوژ در دقیقه از تاکومتر،

کنترل زمان سنج

تایمر یا زمان سنج سانتریفیوژ باید مرتب به صورت هفتگی در مقابل کروномتر کالیبره شود. می توان از دو کروномتر استفاده کرد و میانگین زمان نشان داده توسط آن ها را محاسبه کرد.

نحوه کنترل زمانسنج سانتریفیوژ به صورت زیر است:

- ◆ بین حداکثر و حداقل زمان های سانتریفیوژ، ۵ زمان را با فواصل مساوی انتخاب کنید.
- ◆ زمان های مورد نظر را یادداشت کنید.
- ◆ زمانسنج سانتریفیوژ را در هر یک از زمان های انتخاب شده با کروномتر مقایسه کنید. هنگامی که مدت زمانسنج تمام شد، کروномتر را خاموش کنید (نه هنگامی که حرکت دورانی سانتریفیوژ به پایان می رسد).
- ◆ تمام اعداد کروномتر را در مقابل زمان های انتخاب شده مربوطه یادداشت کنید.
- ◆ نتیجه را در فرم کالیبراسیون سانتریفیوژ وارد نمایید.
- ◆ اختلاف اعدادی که توسط کروномتر خوانده شده با اعداد زمانسنج سانتریفیوژ مقایسه کنید.
- ◆ اختلاف زمان بین سانتریفیوژ و کروномتر کمتر از ۱۰٪ قابل قبول است. در غیر این صورت دستگاه باید سرویس و مجدداً این بررسی انجام شود.

کنترل دما

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

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 مجدداً خوانده و ثبت می شود. اختلاف دما بیش از ۲°C در سانتریفیوژهای یخچالدار و بیش از ۵°C در انواع معمولی مهم بوده و می بایست 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 کرد.
- ✓ 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 شود.
- ✓ در صورت برقرار نبودن توازن و تولید صداهای ناهنجار بلافاصله دستگاه را خاموش نموده و رفع عیب شود.
- ✓ همواره باید از تراز بودن Bucket ها قبل از روشن کردن دستگاه مطمئن شوید.
- ✓ لوله ها از نظر وجود خراش یا ترک، قبل از روشن شدن سانتریفیوژ، کنترل شود.
- ✓ از سانتریفیوژ کردن لوله های حاوی نمونه بدون درپوش تا حد امکان خودداری شود.
- ✓ در صورت شکستگی یا شک به شکستن لوله ها در سانتریفیوژ، باید دستگاه را خاموش کرده، به مدت ۳۰ دقیقه صبر کنید 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.