

الزامات و نکات فنی تجهیزات در آزمایشگاه پزشکی؛ نکات فنی دستگاه های دستگاه میکروپلیت ریدر (Microplate Reader)

کلیات

Microplate Reader که به آن اصطلاحاً "Elisa Reader" هم گفته می شود، یک فتومتر اختصاصی است که برای خوانش نتایج آزمایش ها به روش Elisa طراحی شده است، روشی که به وسیله آن وجود آنتی بادی یا آنتی ژن اختصاصی در نمونه بررسی می شود.

چگونگی کاربری

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

نمونه های مورد آزمایش در پلیت های خاصی که حاوی چاهک ها (Well) است، قرار می گیرد. این پلیت ها معمولاً دارای ۸ ردیف و ۱۲ ستون و به تعداد کلی ۹۶ چاهک هستند. برای انجام آزمایش بر روی نمونه ها، کنترل و استانداردها در چاهک های میکروپلیت قرار گرفته، مراحل انکوباسیون و شستشو طبق دستورالعمل کیت انجام گرفته و در نهایت جذب نوری یا غلظت توسط Microplate reader خوانده می شود. برای عملکرد صحیح باید دستگاه در فضای تمیز و عاری از گرد و غبار باشد و بر روی یک میز ثابت و دور از وسایل ارتعاش زا (مانند سانتریفیوژ و ...) قرارگیرد و دستگاه باید دارای سیم اتصال به زمین باشد. در خصوص روش کار

با دستگاه با توجه به وجود انواع مختلف میکروپلیت ریدر، بدیهی است که هر آزمایشگاه باید با توجه به مدل دستگاه روش کار آن را تدوین نماید.

نحوه نگهداری

نگهداری روزانه

- ۱- در صورت امکان دسترسی، حسگرهای نوری هر کانال را از نظر تمیز بودن کنترل کنید (قبل از انجام با شرکت پشتیبان هماهنگ شود).
 - ۲- مطمئن شوید که دستگاه و سیستم نوری تمیز است.
 - ۳- مطمئن شوید که کالیبراسیون دستگاه صحیح است. وقتی کار روزانه را شروع می کنید اجازه دهید که دستگاه برای ۳۰ دقیقه گرم شود و سپس با پلیت خالی تمیز خوانش را انجام دهید. خوانش ها باید برابر باشند و یا در محدوده بسیار نزدیک $\pm 0.1\%$ باشند. اگر چنین نبود پلیت را ۱۸۰ درجه چرخانده و خوانش را تکرار کنید، به این وسیله مشخص می شود که اشکال از پلیت است و یا دستگاه ایراد دارد.
 - ۴- سیستم اتوماتیک وارد و خارج کننده پلیت و صفحه حرکتی پلیت را کنترل کنید، حرکت پلیت باید نرم و مداوم باشد.
 - ۵- استفاده از self-check دستگاه که به طور اتوماتیک شدت نور خروجی-چرخش فیلترها، حرکت پلیت، صفحه نمایشگر و پرینتر را کنترل می کند.
- ضمناً Self-check را باید پس از سرویس، تعمیر و کالیبراسیون دستگاه انجام داده و ثبت نمود. در صورت اختطار شرکت پشتیبان را مطلع سازید.

نگهداری پیشگیرانه در فواصل هر ۳ ماه یکبار

- ۱- ثبات و تداوم منبع نوری (لامپ) را کنترل کنید. در بعضی از دستگاه‌ها با استفاده از یک پلیت کالیبره در فواصل هر ۱۵ دقیقه به مدت یک ساعت خوانش را انجام دهید و آن‌ها را مقایسه نمایید. نباید اختلافی وجود داشته باشد.
- ۲- در صورت امکان سیستم‌های ساطع‌کننده و دریافت‌کننده نوری را تمیز کنید.
- ۳- سیستم اتوماتیک وارد و خارج‌کننده پلیت را تمیز کنید.
- ۴- در یک امتداد بودن هر چاهک با منبع ساطع‌کننده و دریافت‌کننده (detector) نوری را کنترل کنید.

کنترل کیفی الایزا ریدر

کنترل کیفی الایزا ریدر شامل موارد زیر می‌شود:

- بررسی تکرارپذیری (repeatability)
- بررسی صحت
- بررسی خطی بودن (linearity)
- کنترل کالیبر بودن موتور جابجاکننده پلیت (Alignment)

نکات مهم

◀ در صورت استفاده از محلول رنگی کنترل کیفی خطی بودن و صحت فتومتریک مطابق با سایر دستگاه‌های فتومتریک است ولی باید از محلول‌هایی استفاده کرد که در طول موج‌های محدوده دستگاه الایزا ریدر قابل خوانش باشد. ◀ در صورتی که دستگاه دارای سه (fast, central, mode) در صورتی که دستگاه دارای سه (fast, central, mode) باشد، در هنگام کنترل کیفی بهتر است حالت accurate انتخاب شود.

• آزمون تکرارپذیری یا بررسی دقت

برای این آزمون میتوان از محلول‌های رنگی در طول موج مشخص استفاده کرد. مثلاً متیل اورنج حاوی ۰/۱ درصد tween 20 (methyl orange in 0/1% Tween 20) که خوانش آن در طول موج ۴۹۰ نانومتر انجام می‌شود. باید رقت‌های مختلف از این محلول به نحوی تهیه شود که OD بین ۰-۱، ۱-۲، و ۲-۳ قابل اندازه‌گیری باشد. حداقل ۳ بار خوانش از هر رقت صورت گرفته و OD میانگین حداقل و حداکثر را به دست آورده و اعداد به دست آمده باید در محدوده مشخصی باشند که توسط شرکت سازنده اعلام می‌شود که عمدتاً محدوده مورد نظر $\pm 1\%$ mean است و یا هر رقت را حداقل ۱۰ بار خوانده و

میانگین، انحراف معیار و CV را به دست آورده که باید کمتر از CV مجاز باشد. برای اطلاع از CV مجاز باید به کتابچه دستگاه رجوع شود.

• بررسی صحت

هدف از این آزمون تعیین تفاوت جذب واقعی با جذب مشاهده شده است. صحت فتومتری به توانایی منبع نوری در ارایه حداکثر تابش، نوع و کیفیت سیستم مونوکروماتور وابسته است. این بررسی به سه روش انجام می‌شود. الف) در صورت استفاده از محلول رنگی مانند متیل اورنج حاوی ۰/۱ درصد توئین ۲۰، باید OD خوانده شده توسط الایزا ریدر با OD خوانده شده در اسپکتروفتومتر مرجع طبق فرمول زیر مقایسه شود و درصد inaccuracy یا Bias مربوطه محاسبه شود که در این صورت عدم صحت نباید از ۱/۵ درصد بیشتر باشد و یا OD دستگاه مورد نظر باید در محدوده $\pm 0/001$ اسپکتروفتومتر مرجع (فرانس) باشد.

$$\text{inaccuracy} = \frac{\text{OD اسپکتروفتومتر مرجع} - \text{OD دستگاه}}{\text{OD اسپکتروفتومتر مرجع}} \times 100$$

نکته: به دلیل اختلاف در زاویه تابش نور و نیز اختلاف در کووت اسپکتروفتومتر با میکروپلیت الایزا ریدر، مقایسه OD این دو دستگاه از نظر برخی کارشناسان مورد سوال است.

ب) می‌توان از پلیت‌های کالیبره دارای فیلترهای مشخص استفاده کرد. این پلیت‌ها در مکان‌های تعیین شده دارای فیلترهای مشخصی هستند که بعد از خواندن این پلیت‌ها توسط دستگاه الایزا ریدر می‌توان OD به دست آمده را با OD بروشور پلیت کالیبره مقایسه نمود. در این صورت میزان inaccuracy از روی بروشور پلیت کالیبره محاسبه می‌شود.

ج) استفاده از محلول‌های تجاری مخصوص الایزاریدر و مقایسه OD بدست آمده با OD ارایه شده توسط شرکت سازنده (دارا بودن تاییدیه‌های معتبر بین‌المللی و یا آزمایشگاه مرجع سلامت برای این دسته از محلول‌های تجاری الزامی است).

• آزمون خطی بودن

جهت آزمون خطی بودن می‌توان از محلول‌های

تجاری با جذب نوری مشخص استفاده کرد. در صورتی که میانگین جذب نوری در رقت های مختلف در محدوده مورد انتظار باشد، نشاندهنده قابل قبول بودن این آزمون بوده و در غیراین صورت بایستی با شرکت سازنده مشورت کرد.

● کنترل کالیبره بودن موتور جابجا کننده پلیت (Alignment)

با استفاده از پلیت های کالیبره که دارای سوراخ هایی در مکان های مشخص هستند، صورت می پذیرد. این مکان ها وضعیت قرارگیری سیستم نوری پلیت ریدر را مشخص می نماید. وقتی پلیت کالیبره با بلانک هوا خوانده شود، سوراخ های این مکان ها، در وضعیت مطلوب، جذبی در محدوده ± 0.015 خواهند داشت.

توجه:

همانطور که گفته شد، با استفاده از پلیت کالیبره (Check Plate) که دارای جذب نوری مشخص در فیلترهای تعبیه شده در طول موج های متفاوت هستند می توان آزمون صحت، تکرار پذیری، alignment و خطی بودن را انجام داد. همه این نتایج در صورتی قابل اطمینان هستند که پلیت کالیبره به فواصل منظم توسط یک مرکز قابل اطمینان تایید شده باشد. فیلترهای شیشه ای به کار رفته در پلیت های کالیبره، بسیار پایدار است، اما به هر حال می توانند تحت تاثیر بخارات اسیدها و بازها یا قرار گرفتن در معرض اشعه ماوراء بنفش به مدت طولانی، آسیب ببینند. خراش شیشه باعث شکست ناخواسته نور شده و مقادیر جذبی (OD) را تغییر می دهد. نور ماوراء بنفش به مدت طولانی می تواند ترکیب فیزیکی شیشه را تغییر داده و اثر مشابهی ایجاد نماید. به علاوه وجود گرد و غبار، رسوبات و یا روغن بر سطح فیلترها باعث تغییر میزان جذب می شود. همچنین پلیت کالیبره دارای سوراخ های دقیق Alignment است، که ممکن است

با افتادن و یا تغییر شکل، محل آنها تغییر کند. عملکرد این سوراخ ها نیز توسط روغن یا رسوبات دچار اشکال می شود. به دلیل ایجاد این اشکالات، تایید کالیبر بودن این پلیت ها هر سال یکبار توصیه می شود.

کالیبراسیون

لازم به ذکر است که در صورت هرگونه اشکال در نتایج کنترل کیفی باید از صحت کالیبراسیون اطمینان حاصل کرد. ضمناً بعد از هر سرویس و یا هر سال یک بار باید کالیبراسیون توسط شرکت پشتیبان انجام شود.

ایمنی

- قبل از باز کردن و تعمیر حتما سیم دستگاه از پریز برق بیرون آورده شود.
- باید هنگام کار با مواد شیمیایی خطرناک تمامی موارد ایمنی رعایت شود.
- فقط با ولتاژ تعیین شده از دستگاه استفاده نمایید و در صورت جابه جایی دستگاه ولتاژ چک شود.
- تعمیر دستگاه ناپستی توسط کاربر صورت گیرد.
- از سوار کردن قطعات اضافه بدون نظارت شرکت پشتیبان خودداری نمایید.
- در زمان استفاده از دستگاه دقت نمایید پوشش دستگاه از روی آن برداشته شده باشد.
- به منظور پیشگیری از اثرات نوسانات جریان الکتریکی لازم است که:
 - ◀ دستگاه به سیستم تثبیت کننده ولتاژ برق (Voltage Regulator) یا سیستم تامین کننده برق اضطراری (UPS) که دارای تثبیت کننده ولتاژ داخلی است، متصل شود.
 - ◀ سیستم برق دستگاه باید دارای سیم اتصال به زمین مناسب (ارتدار) باشد.

ماهنامه تشخیص آزمایشگاهی را در فضای مجازی دنبال کنید:

📍 @Tashkhis_Magazine

📷 Tashkhis_Magazine

🌐 www.tashkhis.ir

in tashkhis magazine