



بسته آموزشی کنترل کیفیت و تضمین کیفیت در آزمایشگاه

تهیه و تدوین :

احد شهنامی

کارشناس مسئول آزمایشگاه مرکز بهداشت استان

مرداد ۱۳۹۹



بسته آموزشی

کنترل کیفیت و تضمین کیفیت در آزمایشگاه

این مجموعه در راستای کنترل کیفیت و تضمین کیفیت در آزمایشگاه، در گروه کارشناسان آزمایشگاه مرکز بهداشت

استان آذربایجان شرقی با مشارکت و همکاری افراد زیر تهیه و تدوین گردیده است :

۱. احد شهنامی (کارشناس آزمایشگاه - پست سازمانی : کارشناس مسئول آزمایشگاه)

۲. فرشاد آریادوست (کارشناس آزمایشگاه - پست سازمانی : کارشناس مسئول آزمایشگاه)

۳. مهدی پارسایی (کارشناس آزمایشگاه - پست سازمانی : کارشناس آزمایشگاه)

با قدردانی از همکاری صمیمانه کارشناسان آزمایشگاههای تابعه معاونت بهداشتی استان آذربایجان شرقی

زیر نظر : آقای دکتر رضا یوسفی فرخاد

رئیس گروه کارشناسان دارو و آزمایشگاه مرکز بهداشت استان

تاریخ تهیه بسته آموزشی : مرداد ماه ۱۳۹۹

گروه های هدف:

کارشناس آزمایشگاه - کاردان آزمایشگاه - تکنسین آزمایشگاه

اهداف آموزشی:

هدف کلی:

افزایش دانش و آگاهی پرسنل آزمایشگاههای بهداشتی در مورد کنترل کیفیت و تضمین کیفیت در آزمایشگاه می باشد.

روش و نحوه اجرای آموزش:

با توجه به اینکه هدف این مجموعه آموزشی افزایش دانش و آگاهی کارکنان در مورد کنترل کیفیت و تضمین کیفیت در آزمایشگاه می باشد، بنابراین می تواند جهت ارائه بهتر مطالب به روش حضوری در قالب کارگاه آموزشی و عملی ارائه شود و یا جهت پوشش تعداد بیشتری از آموزش گیرندگان بصورت غیرحضوری و در قالب کتابخوانی انجام گیرد.

مدت دوره آموزشی : ۳۰ ساعت

ارزشیابی :

در پایان دوره بمنظور ارزیابی میزان حصول موفقیت و دستیابی به اهداف آموزشی و بررسی آگاهی، نگرش و عملکرد آموزش گیرندگان و بهبود مستمر فرآیند، یک ارزشیابی از شرکت کنندگان بصورت تستهای چهارگزینه ای بعمل خواهد آمد.

مقدمه :

اطمینان از صحت نتایج آزمایشگاهی بعنوان یکی از دغدغه های اسای در آزمایشگاه های تشخیص طبی و تحقیقاتی می باشد؛ بویژه در آزمایشگاه های بالینی که انجام آزمایش فرد مراجعه کننده منجر به تولید نتایج و پارامترهای آزمایشگاهی می شود که ارتباط تنگاتنگی با مولفه های سلامت و درمان موفقیت آمیز فرد یا بیمار دارد.

کنترل کیفی و کالیبراسیون ابزارهای آزمایشگاه بعنوان بازوهای توانمند تشخیص در کنار کارشناسان آزمایشگاه با انگیزه و متعهد، به ترتیب بعنوان شاخه و تنه درخت تشخیص از اهمیت زیادی برخوردار است. این درخت تشخیص نیازمند ارزیابی و به روز رسانی در دوره های زمانی دارد.

در ذیل توضیحاتی در خصوص کالیبراسیون و اجرای فرآیند کنترل کیفیت در خصوص ابزارهای آزمایشگاهی آورده شده است.

پیپت

پیپت در واقع لوله بسیار نازکی است که برای برداشتن و جا به جا کردن مقادیر بسیار کم مایع به کار می رود و در انواع پلاستیکی و شیشه ای ساخته می شود.

پیپت یا پیپتور یک لوله نازک شیشه ای است که هردوسر آن باز است اما روزنه یک سر آن به اندازه نوک یک قطره چکان باریک است. پیپت برای برداشتن و انتقال دادن مقادیر کم مایعات و محلولهای شیمیایی به کار می رود و معمولاً وقتی بخواهیم با دقت زیادی مقداری مایع را اندازه گیری کنیم. پیپت های شیشه ای دقیق ترین وسیله برای اندازه گیری و انتقال محلول ها هستند و دقت آنها در حد میلی لیتر است.

میکروپیپت وسیله ای پیچیده تر است که دقت آن در حد میکرولیتر (یک هزارم میلی لیتر) است. میکروپیپت یک مکنده قابل تنظیم همراه خود دارد که به کمک نوک های قابل تعویض به طور اتوماتیک می تواند مقدار بسیار کم و معینی را برداشت کند.

پیپت معمولی

لوله ای است شیشه ای بسیار نازک که هر دو سر آن باز است. یک سر آن باریک تر است که به آن "نوک" پیپت می گوئیم که مایع و محلول از همین قسمت وارد پیپت می شود. انتهای پیپت که به آن "دهانه" می گوئیم گشاد تر است و به وسیله انگشت مهار می شود تا مانع بیرون ریختن مایع از آن شود. همچنین در صورت استفاده از بادکش برای وارد کردن محلول به پیپت، آن را به دهانه پیپت متصل می کنیم



پیپت مدرج

یک لوله استوانه ای است که در طول آن به منظور نشان دادن مقدار محتویات آن درجه بندی شده است.

پیپت حجمی فقط یک خط به عنوان درجه دارد و در اندازه های مختلف مثلاً ۱۰، ۲۵، ۵۰ میلی لیتری وجود دارد. هر گاه، مقدار مایع به خط درجه برسد نشان دهنده آن است که مقدار مایع موجود در آن ۱۰، ۲۵ یا ۵۰ میلی لیتر است. در وسط پیپت حجمی یک برآمدگی به شکل حباب وجود دارد که ظرفیت آن را افزایش می دهد.

پیپت ها را از مواد پلاستیکی هم می سازند که در بسیاری از موارد می تواند به جای پیپت شیشه ای مورد استفاده قرار گیرد.



پیپت پاستور شیشه ای لوله ای شیشه ای است که نوک آن بسیار نازک شده است و برای برداشتن مقادیر بسیار کم مایعات مورد استفاده قرار می گیرد. وجود بادکش لاستیکی در سر پیپت پاستور ضروری نیست چون مایعات به محض تماس با نوک

این نوع پیپت در اثر جاذبه ملکولی بین شیشه و آب یا به اصطلاح کشش سطحی به داخل آن کشیده می شود.

شستشوی وسایل در آزمایشگاه

پی پت، بورت و بالن حجم سنجی باید کاملاً تمیز و بدون چربی باشند. در غیر این صورت، نتایج غیر قابل اعتماد خواهند بود.

سایر وسائل شیشه ای نیز مانند ارلن مایر، بشر و... باید کاملاً تمیز باشند. برای اینکه از تمیز بودن وسائل شیشه ای مطمئن شوید آنها را با آب مقطر پر و سپس خالی کنید، اگر یک لایه یکنواخت آب باقی ماند ظرف تمیز است ولی اگر آب بصورت

قطرات جمع شود، ظرف کثیف است و باید تمیز شود. روشی که غالباً بکار می رود شامل پر کردن وسیله مورد نظر با محلول تمیز کننده و گذاشتن آن به مدت چند ساعت است. سپس محلول را خالی می کنند و وسیله را با آب معمولی چندین مرتبه

شستشو داده و پس از سه تا چهار بار آبکشی با آب مقطر در جایی قرار می دهند تا خشک شود.



طرز تهیه محلول تمیز کننده:

۱- محلول تقریباً اشباع دی کرومات پتاسیم در اسید سولفوریک غلیظ : در یک بالن ۵۰۰ میلی لیتری مقاوم در برابر حرارت ، ۱۰ تا ۱۵ گرم دی کرومات پتاسیم (O_2Cr_2KY) را با حدود ۱۵ میلی لیتر آب مقطر مخلوط کنید. سپس به آرامی اسید سولفوریک غلیظ بیفزائید و در همین حال بالن را کاملاً بچرخانید. با افزودن اسید ، محتوی بالن بصورت یک توده قرمز نیمه جامد در خواهد آمد . اسید سولفوریک را به اندازه ای بیفزائید که این توده را کاملاً حل کند . بگذارید محلول تا اندازه ای خنک شود سپس آن را به داخل یک بطری ذخیره منتقل کنید . محلول را می توان چندین بار مورد قرار داد تا اینکه به رنگ سبز درآید که در این حال باید دور ریخته شود.

تهیه محلول KOH الکلی:

مقدار ۱۰۰ گرم هیدروکسید پتاسیم (KOH) در ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل نموده و پس از سرد کردن و رسیدن به دمای محیط، با اتانول به حجم یک لیتر برسانید.

توجه: محلول تمیز کننده شدیداً خورنده است و ترکیب خطرناکی است و باید با نهایت دقت بکاربرده شود و اگر با پوست بدن تماس پیدا کرد محل مورد نظر را با آب فراوان بشوئید.

نحوه شستشوی وسایل شیشه ای مانند بشر، ارلن مایر(بجز بورت ، پی پت و بالن ژوژه) :

بشر ، ارلن مایر و سایر وسایل شیشه ای که جهت آزمایش از آنها استفاده می شود باید کاملاً تمیز و بدون چربی باشد. برای تمیز کردن آنها ابتدا ظروف را با مایع ظرفشویی و آب معمولی شسته و سپس با آب مقطر کر دهید و اگر آب بصورت قطرات جمع شود، ظرف کثیف است و از محلول تمیز کننده استفاده نمائید. سپس ظروف را در محلی قرار دهید تا خشک شود.

(می توانید برای خشک کردن ظروف شیشه ای از گرم کن یا اون استفاده نمائید).



شستشو پی پیت ، بورت و بالن حجم سنجی (بالن ژوژه) :

برای شستشو بالن حجم سنجی (بالن ژوژه) ابتدا با مایع ظرفشویی و آب معمولی شستشو داده و سپس با آب مقطر کر دهید و اگر آب بصورت قطرات جمع شود ظرف کثیف است و از محلول تمیز کننده استفاده نمائید.

برای شستشوی بورت ، حدود یک لیتر از محلول را داخل مخزن بورت ریخته و بورت را از محلول پر نموده و پس از چند دقیقه خالی نمایید .

این عمل را چندین بار تکرار نموده تا کاملاً تمیز شود سپس در مخزن آب مقطر ریخته و بورت را چندین بار پر و خالی کنید و در مرحله بعد با محلولی که تیتراسیون را انجام می دهید، بورت را کر دهید.

برای شستشوی پی پت، چندین بار با محلول تمیز کننده پر و خالی کنید و سپس با آب مقطر کر دهید.

یادآوری : حرارت دادن بورت، پی پت و بالن حجم سنجی (بالن ژوژه)، حجم آنها را تغییرمی دهد و ایجاد خطا می کند. بنابراین از شستشو با آب گرم یا حرارت دادن آنها خودداری نمائید.

دستور عمل و آماده سازی محلول های مورد نیاز در آزمایشگاه های بهداشتی:

معرف کالکون : یک گرم از معرف کالکون را با ۱۰۰ گرم کلرور سدیم مخلوط نموده و در یک هاون بسائید.

معرف اریو کرم بلک تی : یک گرم از معرف را با ۱۰۰ گرم کلرور سدیم مخلوط نموده و بسائید.

معرف مخلوط : ۰,۲ گرم برومو کروزول گرین و ۰,۲ گرم متیل رد در ۴۰۰ میلی لیتر اتانول حل نمائید.

معرف باریم دی فنیل آمین سولفانات : ۰,۳ گرم از معرف را به یک بشر ۴۰۰ میلی لیتری منتقل نموده و ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر و سپس ۱۰۰ میلی لیتر اسید

سولفوریک غلیظ به آن اضافه نمائید و کاملاً بهم بزنید و در شیشه تیره رنگ نگهداری کنید. می توانید بجای محلول از جامد آن نیز استفاده نمائید.

معرف متیل رد : ۰,۲ گرم متیل رد را در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول حل کرده و محلول را صاف نمائید.

معرف فنل فتالئین : ۰,۵ گرم فنل فتالئین را در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول حل نمائید.

معرف تیمول فتالئین : ۰,۴ گرم تیمول فتالئین را در ۶۰۰ میلی لیتر اتانول حل نموده و سپس ۴۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه نموده و محلول را هم بزنید تا یکنواخت شود و اگر رسوبی در محلول وجود داشت آنرا صاف نمائید.

معرف متیل اورانژ : ۰,۵ گرم معرف را در یک لیتر آب مقطر حل نمائید.

اسید کلریدریک ۰,۱ نرمال : ۸,۲۸ میلی لیتر اسید کلریدریک غلیظ را به حجم یک لیتر برسانید و یا یک عدد تیترازول ۰,۱ نرمال را به حجم یک لیتر برسانید.

اسید کلریدریک ۱ نرمال : ۸۲,۸ میلی لیتر اسید کلریدریک غلیظ را به حجم یک لیتر برسانید یا یک عدد تیترازول ۱ نرمال به حجم یک لیتر برسانید.

محلول آب مقطر اسیدی : ۲۰ میلی لیتر اسید کلریدریک را با ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط نمائید.

اسید کلریدریک ۵ درصد : به ازای هر ۵ میلی لیتر اسید کلریدریک، ۹۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه نمائید.

اسید کلریدریک ۱+۹۹ : به ازای هر یک میلی لیتر اسید کلریدریک، ۹۹ میلی لیتر آب مقطر اضافه نمائید.

محلول اسید نیتریک ۰,۱ نرمال : ۶,۹ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ را به حجم یک لیتر برسانید.

محلول ۰,۱ نرمال سود: ۱ گرم NaOH جامد را در آب مقطر حل نموده و در یک بالن ژوژه ۲۵۰ میلی لیتری به حجم برسانید.

محلول ۱۰ گرم در لیتر سود : ۱۰ گرم سود جامد را در آب مقطر حل نموده و به حجم یک لیتر برسانید.

محلول ۴ نرمال KOH : مقدار ۲۵۰ گرم KOH جامد را در آب مقطر حل نموده و به حجم یک لیتر برسانید.

محلول ۰,۰۱ نرمال EDTA : یک عدد تیترازول ۰,۱ نرمال را به حجم ده لیتر برسانید .
یا ۳۷,۲۲۴ گرم EDTA از نمک ($\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) خالص را که در اون در حرارت ۸۰ درجه سانتیگراد خشک شده است وزن نموده و به حجم ده لیتر برسانید.

محلول بافر ($\text{PH}=10$): مقدار ۵۰ گرم کلرور آمونیوم را در آب مقطر حل نموده و ۵۵۰ میلی لیتر NH_3 غلیظ اضافه نموده و به حجم یک لیتر برسانید.

کلرور باریم ۱۰۰ گرم در لیتر : مقدار ۱۰۰ گرم $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ را در آب مقطر حل و به حجم یک لیتر برسانید.

کلیات سمپلر

سمپلر برای انتقال حجم های کم نمونه با دقت و صحت بالا مورد استفاده قرار می گیرد . سمپلرها به عنوان میکروپیپت، کالیبر شده اند.

چگونگی کاربری :

مطابق 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 و جداره ظرف با زاویه ۴۰ درجه
- رها کردن آرام دکمه در زمان برداشت و تخلیه
- کشیدن نوک سمپلر به لبه ظرف برای حذف قطرات اضافی و ۱-۳ ثانیه تامل پس از فشار تا توقف اول در زمان تخلیه محلول، ضمن تماس با جداره

نحوه نگهداری

نگهداری دوره ای : شامل شستشو و کنترل کیفیت سمپلر است، شستشو سالی دو بار و قبل از انجام مراحل کنترل کیفیت انجام می شود و به شکل تمیز کردن قسمتهای داخلی است که بر اساس روش موجود در راهنمای سمپلر انجام می گیرد.

توجه به این نکته لازم است که پیستون پس از شستشو باید با مقدار کمی از خمیر همراه سمپلر روغنکاری شود.

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

برای ضدعفونی کردن سمپلر محلول ۶۰٪ ایزوپروپانل توصیه می شود.

ضربه به سمپلر میتواند این وسیله را از کالیبراسیون خارج نماید لذا باید تمهیدات لازم در خصوص جلوگیری از ضربه به سمپلر به کار گرفته شود.

پیستون و حلقه پلاستیکی (O-ring) باید حداقل سالی ۲ بار روغن کاری شود.

قسمت نوک (Tip holder) سمپلر باز شده و در صورت مکش محلولهای اسیدی و سایر محلولهای خورنده باید بخش نگهدارنده سر بخوبی با آب مقطر شسته شود. هرگز نباید از سمپلرهای متغیر در حجمی خارج از محدوده حجمی ادعا شده، استفاده نمود.

کنترل کیفیت سمپلر

در امر کنترل کیفیت 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 کیفیت انجام می شود.

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

روش توزین روشی در دسترس و قابل اطمینان است که در اغلب آزمایشگاه ها بکار گرفته می شود.

کالیبراسیون سمپلر

سمپلر یکی از مهمترین ابزارهای کمکی برای برداشت مایعات بیولوژیک و غیر بیولوژیک مانند خون ، سرم و ریجنت های مورد استفاده در بخش بیوشیمی می باشد.

نحوه کالیبراسیون سمپلر

کالیبراسیون سمپلر به دو روش صورت می گیرد

الف) روش رنگ سنجی (با استفاده از رنگ سبز خوراکی و پارانیتروفنل)

ب) روش حجم سنجی

روش رنگ سنجی :

الف - رنگ سبز خوراکی

برای هر گروه باید یک محلول ذخیره از رنگ سبز خوراکی تهیه نمود.

سمپلرها در کارهای متداول به دو گروه ۱۰-۱۰۰ میکرولیتر، ۱۰۰-۱۰۰۰ میکرولیتر تقسیم می شود.

۱۵۵ میلی گرم در صد رنگ سبز در آب مقطر حل شده و برای گروه ۱۰۰-۱۰۰۰ میکرولیتر محلول ۱۵/۵ میلی گرم آماده می شود .

غلظت در محلولهای ذخیره به گونه ای انتخاب شده که محلول ۱۵۵ میلی گرم درصد پس از رقیق شدن به نسبت ۱/۱۰۱ و محلول ۱۵/۵ میلی گرم درصد پس از رقیق شدن به نسبت ۱/۱۱ و جذبی حدود ۰/۴ داشته باشد.

ب- محلول پارانیتروفنل

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

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

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 می شود.

سمپلرهای با حجم ۱۰۰-۱۰۰۰ میکرولیتر

کنترل دقت :

در ده لوله آزمایش بسته به نوع سمپلر رقت ۱/۱۰۰۱ از محلول ذخیره در سود ۰/۰۱ نرمال تهیه می شود .

محتویات لوله کاملاً مخلوط شده سپس جذب نوری محلول درون هر لوله در طول موج ۴۰۵ نانومتر در مقابل سود ۰/۰۱ نرمال قرائت می شود .

کنترل صحت :

در بالن ژوژه ۱ لیتری، ۱ میلی لیتر از محلول ذخیره به ۱۰۰۰ میلی لیتر سود ۰/۰۱ نرمال اضافه شده و کاملاً مخلوط 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 .

محتویات لوله کاملاً مخلوط شده سپس جذب نوری محلول درون هر لوله در طول موج ۴۰۵ نانومتر در مقابل سود ۰/۰۱ نرمال قرائت 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 شده و کاملاً مخلوط می شود.

جذب نوری این محلولها پس از اعمال ضریب رقت در طول موج ۴۰۵ نانومتر حدود ۰/۵۵ خواهد بود.

فتومتر با آب مقطر یا سود صفر می شود .

فتومتر با آب مقطر یا سود صفر می شود .

فرآیند کنترل صحت:

جهت کنترل صحت عملکرد سمپلر باید رقتی مشابه رقت محلول رنگی، سمپلر را با استفاده از پیپت و بالن ژوژه کلاس A تهیه نمود .

جذب حداقل سه خوانده از محلول تهیه شده در بالن ژوژه را با میانگین جذب بدست آمده در ارزیابی دقت سمپلر مقایسه و طبق فرمول عدم صحت میزان خطا بر حسب درصد محاسبه می شود.

فرآیند کنترل دقت :

ده لوله چیده می شود و محلول ذخیره رنگی متناسب با حجم سمپلر مورد نظر برای کنترل انتخاب می شود.

با سمپلر مورد نظر از محلول ذخیره رنگی کشیده شده و به لوله ها ریخته می شود و پس از مخلوط کردن جذب نوری لوله ها در مقابل آب مقطر قرائت می شود.

اختلاف در جذب نوری لوله ها به اختلاف در حجم محلول برداشت شده توسط سمپلر نسبت داده می شود و با محاسبه ضریب انحراف میزان عدم دقت یا تکرارپذیری تعیین می گردد.

روش توزین

میزان عدم دقت و عدم صحت براساس روش توزین به شرح زیر صورت می پذیرد. یک ویال توزین شده با وزن کاملاً مشخص بر روی ترازو قرار داده شده و با سمپلر ۲۰ بار پیاپی با آبی که دمای آن مشخص باشد پر شده و در درون ویال تخلیه می گردد. وزن هر مکش دقیقاً ثبت می شود.

با استفاده از فرمول انحراف معیار، عدم دقت محاسبه می شود. (CV)

برای محاسبه عدم صحت، میانگین وزن فوق (بعد از تصحیح با عامل دما و فشار) از وزن ادعا شده کم شده و به صورت زیر معین می شود .

میزان عدم صحت (%) = وزن ادعا شده - میانگین وزن بدست آمده / وزن ادعا شده

$$100 \times$$

تفسیر: در کارهای متداول مقدار عدم دقت قابل قبول (ضریب انحراف) حداکثر دو درصد و مقدار عدم صحت قابل قبول حداکثر سه درصد است.

کالیبراسیون

در صورت مشاهده خطای دقت یا صحت، سمپلر جهت کالیبراسیون به شرکت پشتیبان ارسال شده و یا به شرکت کالیبر کننده طرف قرارداد ارسال می شود.

ایمنی:

نباید مایع وارد قسمتهای داخلی سمپلر گردد، همیشه از نوک سمپلر مناسب با حجم برداشتی استفاده شود.

تماس دست با نوک سمپلر آلوده ممنوع است.

هرگز نباید سمپلر حاوی محلول از پهلو به زمین گذاشته شود.

جدول کنترل کیفی سمپلر به روش رنگ سنجی

جدول کنترل کیفی سمپلر به روش رنگ سنجی															
آزمایشگاه.....															
کنترل دقت															
سال.....ماه.....															
حجم سمپلر	رقت محلول	جذب های خوانده شده										میانگین جذب	CV %	میانگین جذب صحت	Bias صحت
۱۰ لاند															
۲۰ لاند															
۲۵ لاند															
۵۰ لاند															
۱۰۰ لاند															
۲۰۰ لاند															
۵۰۰ لاند															
۱۰۰۰ لاند															
کنترل صحت															

کالیبراسیون ترازوی دیجیتال آزمایشگاه :

ترازوی آزمایشگاهی دارای محفظه ی توزین است که مواد ارزشمند گرمی در محفظه توزین می گردد، این امر برای جلوگیری از تاثیر هوا بر وزن مواد می باشد که استاندارد ترین روش برای محاسبه دقیق وزن مواد گرمی است .

در ترکیبات شیمیایی و ساخت دارو خطا حتی به کمترین مقدار منجر به فاجعه می گردد و نیاز به ترازو آزمایشگاهی با دقت بالا وجود دارد. ترازوی دیجیتالی با دقت بالا معادل معادل ۰/۰۰۰۱ گرم و ۰/۰۰۰۰۱ گرم دقیق ترین ترازوی دیجیتال آزمایشگاهی بوده که در آزمایشگاه می توان به کار برد زیرا میزان خطا در این دستگاه ها کاملا از بین رفته است .

در آزمایشگاه به دلیل حساسیت بالا در توزین دقت ترازو باید بسیار واقعی بوده و در تمام مدت توزین رعایت گردد ، گاهی نیز در آزمایشگاه ها نیاز به ترازو دیجیتالی ایجاد می گردد که بتواند رطوبت موجود در مواد را مقایسه و سنجش نماید.

استفاده از ترازوی آزمایشگاهی در مدل رطوبت سنج و مقایسه کننده، نیاز به علم استفاده از ترازو را دارد و هر کاربری به راحتی نمی تواند از دستگاه استفاده نماید. این گروه ترازوی دیجیتالی دارای تنوع بالایی بوده و به صورت کاملا تخصصی تولید می گردد و هر کارخانه ای که به تولید ترازو مشغول است توان تولید ترازو آزمایشگاهی را ندارد و برای تولید و ساخت این دستگاه نیاز به شرایط خاص است به همین دلیل در خرید ترازو حتما دقت لازم رعایت گردد .

جدید ترین ترازوی آزمایشگاهی با امکان کالیبره ی کاملا دیجیتال خطا های آزمایشگاهی را به صورت کامل از بین برده است.

ترازوی دیجیتال آزمایشگاهی ذکر شده در صورت خارج شدن ترازو از حالت کالیبره به صورت کاملا اتوماتیک با سنگ کالیبره ی داخلی به حالت کالیبره و استاندارد ترازوی دیجیتال باز می گردد که می تواند مواد ترکیبی را به صورت دقیق توزین شده و محاسبه ی دقیقی داشته باشد .

هنگام استفاده از ترازوی دیجیتال آزمایشگاهی به چند نکاتی باید توجه کرد :

- پیش از شروع اندازه گیری، ترازو حداقل نیم ساعت روشن باشد.
- میز محل استقرار ترازو به اندازه کافی سنگین و محکم باشد تا از انتقال لرزش به ترازو جلوگیری کند.
- پیش از استفاده از ترازو از تراز بودن آن اطمینان حاصل کنید.
- پیش از استفاده از ترازو آن را (بخصوص صفحه بارگیری) تمیز کنید و هنگام استفاده، از آلوده و کثیف شدن ترازو جلوگیری نمایید.
- به کمک وزنه کالیبره شده در دوره های مشخص بین دو کالیبراسیون ترازو را بازرسی نمایید.
- ترازو را جابجا نکنید، اینکار ممکن است باعث تغییر مشخصه های اندازه شناختی ترازو گردد.
- شرایط محیطی برای استفاده از ترازو را مطابق اعلام سازنده مهیا و کنترل نمایید.
- به کمینه و بیشینه میزان توزین توجه کنید، در صورتی که جرم اندازه گیری شده زیر مقدار حداقل توزین باشد مقدار اندازه گیری شده دارای درستی خوبی نخواهد بود و جرم بالاتر از حد مجاز باعث خراب شدن حسگر تشخیص وزن خواهد شد.
- توزین ترجیحاً در وسط کفه انجام شود، زیرا در اثر دور شدن جرم از وسط کفه خطای بار گذاری غیر متمرکز، در اندازه گیری ها وارد می گردد.

کالیبراسیون پیپت های مورد استفاده در آزمایشگاه :

کالیبراسیون پیپت، بخش اساسی از کارهای آزمایشگاهی است که باید به عنوان قسمتی حیاتی در جایی که نیاز به انتقال یا رقیق سازی حجم مشخصی از مایعات است، در نظر گرفته شود. پیپت ها، ابزارهایی آزمایشگاهی هستند که در طرح ها و

اندازه های مختلف تولید می شوند. تعداد زیادی دفترچه راهنما توسط شرکت های سازنده ارائه شده که هر یک دستورالعمل استفاده و نحوه کالیبراسیون وسیله را بیان می کنند. پیپت، فضای خلأی را برای کشیدن مایع ایجاد می کند و ابزار متداولی

است که در آزمایشگاه ها و موسسات مراقبت بهداشتی استفاده می شود. از آنجا که پیپت برای انداز هگیری و انتقال مواد حیاتی است، کالیبراسیون آن هر چند ماه یک بار ضروری است. کارکرد بسیاری از پیپت های مورد استفاده در آزمایشگاه، از طریق جابجایی هوا کار می کنند که ابزاری برای اندازه گیری و انتقال محلول کار می کنند. مکانیسم استفاده شده، یک پیستون است که توسط انگشت شست کاربر فعال می شود. نوک پیپت در محلول مورد نظر قرار گرفته و حجم مشخصی از آن را دربرمی گیرد.

صحت و دقت

قبل از بحث در مورد کالیبراسیون، باید به این نکته توجه کرد که دانستن صحت و دقت از اهمیت ویژه ای برخوردار است. دقت یک اندازه گیری، تعداد انتخاب های قابل تشخیص را بیان می کند که از بین آن ها یک نتیجه معین انتخاب می شود. برای مثال یک دستگاه اندازه گیری که عدد ۲/۴۳۴ ولت را نشان می دهد، دقیق تر از دستگاهی است که عدد ۲/۴۳ ولت را نشان می دهد.

صحت یک کمیت اندازه گیری شده منفرد، اختلاف بین مقدار واقعی و مقدار اندازه گیری شده، تقسیم بر مقدار واقعی است. این نسبت معمولاً به صورت درصد بیان می شود. چون مقدار واقعی به ندرت در دسترس است.

مقدار واقعی پذیرفته شده یا مقدار مرجع باید مطابق با انستیتوی ملی استانداردها و تکنولوژی باشد.

ارزیابی دقت و صحت

اولین معیار مقایسه برای کنترل کیفیت سمپلرها، میزان ادعا شده توسط سازندگان سمپلر برای **Inaccuracy (Bias)** و **Imprecision (CV%)** است. چرا که به دنبال ارتقای فناوری ابزار آزمایشگاهی و بهبود کیفیت عملکرد ابزار، مقادیر عدم صحت و عدم دقت ادعائی سازندگان میکرو پیپ تنها نیز بسیار کاهش یافته است. حداکثر میزان قابل قبول عدم دقت، عدد ۲ و حداکثر میزان قابل قبول عدم صحت، عدد ۳ پیشنهاد شده است.

در برخی از انواع سمپلرها که حجم ثابتی را برداشت می کنند (سمپلرهای **Fixed Volume**) در صورت وجود **Bias** غیرقابل قبول، می توان با استفاده از اطلاعات مندرج در راهنمای سمپلر، حجم برداشتی را تصحیح کرد.

حفظ صحت و دقت سمپلر

برای حفظ صحت و دقت، سمپلر باید در فواصل دوره ای کالیبره شود. این دوره به عوامل متعددی بستگی دارد. از جمله می توان به موارد زیر اشاره کرد:

مهارت و آموزش اپراتورها و مراقبت های لازم در زمانی که پیپت مورد استفاده قرار می گیرد.

نوع مایع مکش شده توسط پیپت نیز مهم است.

بخارات ناشی از محلول های اسیدی و سایر مواد با خاصیت خوردندگی، ممکن است در تماس با پیستون، اتصالات و حلقه پلاستیکی قرار گرفته و صدماتی را ایجاد کنند. بنابراین باید بخش نگه دارنده، پیستون و حلقه به خوبی با آب مقطر شسته شوند.

صحت و دقت بالا از موارد ضروری در هر سمپلر است. مخصوصا در کاربردهایی که نیاز به دقت فوق العاده ای دارند، کالیبراسیون دستگاه باید بیش از پیش مورد توجه قرار گیرد.

فاصله زمانی مشخصی برای کالیبراسیون وجود ندارد اما هر شرکتی موظف است تا روال کالیبراسیون و نکات مربوط به دستگاه خود را شرح دهد.

تحت شرایط نرمال، بهتر است که سمپلرها هر شش ماه یک بار کالیبره شوند تا عملکرد رضایت بخشی را به ارمغان آورند. برخی کاربردهای ضروری به کالیبراسیون ماهانه نیاز دارند.

حتی در بعضی آزمایشگاه های تخصصی بررسی روزانه نیز انجام می شود.

حجم اسمی

بزرگ ترین حجم قابل انتخاب برای کاربر است که توسط سازنده تعیین می شود.

عوامل موثر بر عملکرد میکروپیپت

۱- اپراتور باید برای استفاده درست از میکروپیپت آموزش دیده باشد و گاهی عملکرد آن را با استانداردهای تعیین شده مقایسه کند تا از صحت کار خود مطمئن شود.

۲- بیشتر کاربران باید آگاه باشند که درجه حرارت و رطوبت نسبی می تواند عملکرد میکروپیپت را تحت تاثیر قرار دهد.

۳- در میکروپیپت اولیه، انتقال گرما از دست های اپراتور سبب تغییرات کوچکی در حجم میکروپیپت می شود. گرما از طریق ابزار مورد استفاده، جذب و به درون آن منتقل می شود. میکروپیپت های جدیدتر فضاهای هوایی دارند در نتیجه کمتر رسانای دما هستند. استفاده از آن ها بهترین تکنیک برای افزایش دقت است.

۴- یکی از علل شایع بی دقتی و اشتباه، خستگی اپراتور است. حتی بهترین اپراتورهای آموزش دیده نیز ممکن است در کار خود با کاهش صحت و دقت مواجه شوند.

۵- طراحی بسیاری از میکروپیپت ها به گونه ای است که نیروی مورد نیاز وارد شده توسط انگشت شست کاربر را کاهش می دهند و علاوه بر این جهت کاربردهای طولانی مدت وزن کمتری نیز دارند که خستگی دست و در نتیجه میزان خطا را کاهش می دهد.

۶- در هر دستگاه یا ابزار مکانیکی، مولفه های متعددی از جمله اصطکاک، سائیدگی، شکستگی و از دست دادن مقاومت، در حرکت تاثیرگذار هستند. در میکروپیپت که هدف، ایجاد یک خلاء دقیق با استفاده از پیستون، انتقالات مکانیکی و سایر اتصالات لاستیکی یا پلیمری است، تمامی موارد فوق می توانند عملکرد ابزار ما را تحت تاثیر قرار دهند. علاوه بر این اثرات خوردگی مایع یا محلول مورد استفاده نیز می تواند به اجزای خارجی صدمه وارد کند یا سبب مشکلاتی در تنظیم حجم مورد نیاز کاربر شود.

نوک پیپت

نگه دارنده نوک ها را با دستمال تمیز کنید. نوک پیپت را به طور صحیح در نگه دارنده قرار دهید به گونه ای که ثابت بماند.

جهت به دست آوردن نتایج دقیق تر، از شست و شو و استفاده مجدد از آن ها خودداری کنید. اگر در سطح خارجی نوک، قطراتی از مایع وجود دارد، آن را با دستمال بدون پرز پاک کنید و در صورتی که مایع درون آن خشک شده یا قابل تمیز کردن نیست، از یک نوک جدید استفاده کنید.

کالیبراسیون

اطمینان از کالیبراسیون صحیح میکرو پیپت ها که از طریق بررسی دقت و صحت عملکرد میکرو پیپت در برداشت حجم مورد انتظار حاصل می شود، نقش مهمی در برنامه های تضمین کیفیت ایفا می کند. اگرچه این ارزیابی به دو روش توزین و رنگ سنجی قابل انجام است، ولی تحت شرایط موجود و به علت عدم دسترسی اغلب

آزمایشگاه ها به الزامات استفاده از روش توزین، مانند ترازوهایی با رزولوشن مناسب برای کنترل سمپلر و کالیبراسیون منظم ترازو، استفاده از روش رنگ سنجی، توصیه می شود.

رنگ سنجی به عنوان روشی مقرون به صرفه شناخته می شود که اکثر آزمایشگاه های معتبر آن را به کار می برند.

در این روش با استفاده از یک محلول رنگی با جذب پایدار، مثل رنگ سبز خوراکی در طول موج ۶۲۰-۶۳۰ نانومتر یا پارانیتروفنل در طول موج های ۴۰۱ یا ۴۰۵ نانومتر، صحت عملکرد سمپلر و نیز قابلیت تکرار آن کنترل می شود. از آنجا که اغلب

فتمترها بهترین عملکرد خود را در محدوده جذبی ۰/۴ نشان می دهند محلول های ذخیره رنگی با غلظتی تهیه می شوند که پس از مرحله رقیق شدن دارای جذبی در حدود ۰/۴ باشند.

کالیبراسیون پیپت در محل مورد استفاده

بسیاری از موسسات، پیپت ها را خودشان کالیبره می کنند. این امر مستلزم تجهیزاتی با صحت بالا است و باید در شرایط کنترل شده صورت گیرد. برای این هدف، نرم افزارهایی طراحی شده اند که به طور ایده آل شامل گزینه های انتخابی در رابطه با مانیتورینگ، محتوای پیپت و آموزش اپراتور هستند.

بیشتر تولید کننده ها ابزارهایی را برای کالیبراسیون ارائه می دهند. بنابراین ممکن است پیپت به کمک قطعات یدکی، توسط نماینده شرکت یا فردی با تجربه تعمیر شود.

دفترچه های راهنما نیز کمک شایانی به کاربر می کنند. با این حال پیپت های الکترونیکی به دلیل پیچیدگی خود، جهت رفع برخی اشکالات احتمالی نیاز به نماینده شرکت سازنده دارند.

نرم افزار کالیبراسیون

این نرم افزار، عضو مهمی در هر آزمایشگاه است. بسیاری از آزمایشگاه ها با خرید این نرم افزار و نوشتن برنامه های مورد نیاز در اکسل، کالیبراسیون پیپت را به عهده می گیرند. خرید و استفاده از نرم افزار مناسب امری پیچیده بوده و نیازمند گذراندن دوره آموزشی مربوطه است.

قبل از خرید، سیستم عامل کامپیوتر خود را بررسی کنید تا از اجرای نرم افزار بر روی آن مطمئن شوید. علاوه بر این از فروشنده، ضمانت نامه نیز بخواهید.

نکات مورد توجه در استفاده از ابزارهای آزمایشگاهی

پیپت و بشر را تمیز و خشک کنید. این عمل هر گونه مایع به جا مانده از آزمایش قبل را برداشته و در نتیجه یکی از عوامل خطا در اندازه گیری حذف می شود.

آب مقطر را در ارلن بریزید و اجازه دهید ۱۵ دقیقه بدون حرکت و ثابت باقی بماند. بعد از این زمان، درجه حرارت آب را اندازه گیری کنید.

جرم بشر را تعیین کنید.

با استفاده از پرکننده پیپت، آب فلاسک را به درون پیت بکشید. سپس آن را در بشر بریزید.

بشر را مجدداً وزن کنید و اختلاف آن را با اندازه گیری قبلی مقایسه کنید. این عمل را ۳ مرتبه تکرار کنید تا از دقت عملکرد پیپت مطمئن شوید. با ۳ بار تکرار، دیگر نیازی به تمیز کردن بشر نیست.

صفحه مدرج روی پیپت را در بالاترین حجم ممکن تنظیم و حجم انتخابی را وزن و ثبت کنید. این عمل را ۵ مرتبه تکرار کنید.

مورد فوق را مجدداً تکرار کنید با این تفاوت که این بار شاخص مدرج را روی کمترین حجم ممکن قرار دهید.

آزمایش را در فضایی تمیز و منظم انجام دهید. آزمایشگاه به هم ریخته کار را دشوار می کند.

در میکروپیپت های متغیر (قابل تنظیم برای حجم های مختلف)، برای کاهش حجم و تنظیم حجم مورد نظر، دکمه کنترل به آرامی تا رسیدن به حجم انتخابی، چرخانده شود. برای افزایش حجم، بهتر است دکمه کنترل را تا کمی بیش از حجم مورد نظر پیچاند و بعد در خلاف جهت با کم کردن حجم به مقدار مورد نظر رسید.

برای ضد عفونی کردن، محلول ۶۰٪ ایزوپروپانل توصیه می شود.

برخی از انواع پیپت ها نیز قابل اتوکلاو هستند.

کالیبراسیون سایر شیشه آلات آزمایشگاهی :

این روش قابل اجرا برای ظروف حجمی با ظرفیت اسمی ۱ میلی لیتر تا ۱۰۰۰۰ میلی لیتر کاربرد دارد. پیپت های ژوژه، پیپت های مدرج، بورت ها، بالن های ژوژه و استوانه های مدرج را می توان از این طریق کالیبره کرد. این متد برای تست لوازم حجمی با ظرفیت زیر ۱ میلی لیتر micro-glassware کاربرد ندارد.

مواد و تجهیزات لازم :

- ۱- شیشه آلات حجمی ذکر شده در قسمت فوق
- ۲- ترازوی حساس با دقت ۱ میلی لیتر
- ۳- ترمومتر با دقت $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- ۴- فشارسنج با خطای اندازه گیری حداکثر 1 Kpa
- ۵- رطوبت سنج
- ۶- آب مقطر به میزان حداقل ۵۰۰ میلی لیتر
- ۷- ارلن مایر (جهت دریافت مایع برای کالیبراسیون پیپت و بورت)
- ۸- گیره و پایه (برای کالیبراسیون پیپت و بورت)

۹- پارچه بدون پرز یا (کاغذ صافی معمولی)

۱۰- میکروپیت

۱۱- کرنومتر

ظروف شیشه ای پیش از استفاده باید کاملاً تمیز و خشک باشد. در صورت آلودگی ظروف باید آنها را با محلول قلیایی پرمنگنات پتاسیم شامل مخلوطی برابر سدیم هیدروکسید ۱M و 30 g/l پتاسیم پرمنگنات به مدت یک ساعت تمیز کرده و MnO_2 باقی مانده را با اگزالیک اسید رقیق یا هیدروکلریک اسید رقیق پاک کرد.

زمان انتظار و زمان تحویل مایع (آب) درون ظرف شیشه ای را باید در نظر گرفت و سریعتر از زمان درج شده روی ظرف نباید مایع (آب) را خالی کرد .

دما و شرایط محیطی که کالیبراسیون در آن انجام می گیرد باید دقیقاً لحاظ شود. رطوبت نسبی محیطی باید بین ۸۵٪ تا ۳۵٪ باشد. دمای محیط باید بین ۱۵ تا ۳۰ درجه با خطای حداکثر ۰/۵ باشد.

لوازم باید یک تا دو ساعت در شرایط محیطی که می خواهیم آنها را کالیبره کنیم جهت رسیدن به تعادل دمایی باقی بمانند.

ظروف شیشه ای بوروسیلیکات نباید در معرض موادی چون فسفریک اسید داغ، قلیا های داغ، قوی و هیدروفلوریک اسید قرار گیرند.

همچنین نباید در دمایی بیش از $150^{\circ}C$ خشک شوند.

کلاس بندی ظروف شیشه ای حجمی در آزمایشگاه

ظروف حجمی آزمایشگاه به طور کلی به دو کلاس اصلی تقسیم بندی می شوند که شامل کلاس A و B است. ظروف کلاس A دارای صحت بیشتر و تولرانس کمتر هستند در مقابل ظروف کلاس B دارای صحت کمتر و تولرانس بیشتری می باشند.

لوازم شیشه ای کلاس A دارای گواهی تایید (certificate) از شرکت سازنده می باشند که معمولاً ارجاع به استانداردهای معتبر ISO یا Din یا ASTM دارد.

استاندارد ظروف آزمایشگاهی

براساس نوع ساخت و طراحی، ظروف شیشه ای آزمایشگاه به دو گروه **to contain** و **TC** و **deliver TD to** تقسیم بندی می شوند.

ظروفی که بعنوان **TC** تقسیم بندی می شوند هنگامی که تا خط کالیبره پر شوند دقیقاً شامل مقدار مشخصی از مایع هستند.

ظروفی که بر روی آنها عبارت **TD** حک شده هنگامی که با روش صحیح مایع درون آنها خالی شود مقدار مایع انتقال داده شده مقدار اسمی آنها (با در نظر گرفتن تولرانس) خواهد بود. به عنوان مثال بالن ژوژه ۵۰۰ میلی لیتری که بر روی آن عبارت

TC حک شده است اگر تا خط نشانه پر شود دارای مقدار ۵۰۰ میلی لیتر (با در نظر گرفتن تولرانس) مایع است. اگر این ظرف را خالی کنیم حجمی که انتقال می دهد کمی کمتر از ۵۰۰ میلی لیتر خواهد بود. در صورتی که اگر بالن ژوژه **TD 500** داشته باشیم، حجمی که انتقال می دهد مقدار ۵۰۰ میلی لیتر خواهد بود. بر مبنای استاندارد بین المللی به جای عبارت **TC** از **IN** و بجای عبارت **TD** از **EX** استفاده می شود.

محدوده خطا

در یک وسیله حجمی که دارای تعدادی خطوط مدرج است، محدوده خطا می تواند در هر کدام از خطوط رخ دهد به طور مثال در یک مزور ۱۰ میلی لیتری که دارای محدوده خطای ± 100 میلی لیتر است، حجم ۱۰ میلی لیتر می تواند محدوده ای بین ۰/۹ تا ۰/۱۱ داشته باشد.

زمان تحویل (delivery time)

حداقل زمانی که باید برای خالی کردن یک ظرف شیشه ای حجمی از مایع در نظر گرفت را زمان تحویل می گویند که به دلیل وجود کشش سطحی بین آب و مولکولهای سطح شیشه است این عدد بر حسب ثانیه بر روی لوازم حجمی درج شده است

حجم اسمی

حجم کاری یک ظرف شیشه ای حجمی یا مقدار حجمی که توسط کارخانه بر روی آن درج شده است مثلاً یک بورت ۵۰ میلی لیتر با یک بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتر به ترتیب دارای حجم های اسمی ۵۰ و ۱۰۰ هستند.

روش کار:

بورت (کالیبره شده بر حسب حجمی که تحویل می دهد)

* دمای آبی که در محیط کالیبراسیون به تعادل دمایی رسیده را توسط ترمومتر ثبت می کنیم. دما را در محاسبات نهایی وارد می کنیم.

* ظرف توزین مناسبی جهت وزن مقدار آب درون بورت انتخاب می کنیم. بهتر است از این مورد از ارلن مایر استفاده شود اگر در فضایی با رطوبت خیلی کم کار می کنید جهت جلوگیری از تبخیر سطحی آب بهتر است سطح داخلی ارلن مایر پس از

استفاده کمی مرطوب باشد (با استفاده از یک پنبه خیس سطح داخلی آنرا نم دار کنید) سپس بلافاصله باید ارلن مایر را توزین کرده و عدد به دست آمده را در محاسبات نهایی وارد کنید.

* بورت مورد نظر را به طور عمودی به پایه وصل کنید.

بورت را تا ۵ میلی لیتر بالای صفر آن از آب پر می کنیم. سپس شیر آن را باز می کنیم تا آب تا حجم اسمی خالی شود.

* پس از پر کردن اولیه ممکن است حبابهای هوای کوچکی در قسمت انتهایی بورت باقی بمانند که باید با زاویه دار کردن بورت و ضربات نوک انگشت آنها را خارج کرد.

مجددا بورت را تا ۵ میلی لیتر بالای صفر آن از آب پر می کنیم. دقت شود در این مرحله باید به آرامی و با بازکردن شیر بورت مقعر آب را برروی سطح بالایی سطح صفر تنظیم کرد. در این حالت بالاتر از صفر بورت نباید آغشته به مایع باشد در این صورت باید توسط یک کاغذ صافی بریده شده به ابعاد مناسب ، سطح داخلی بورت را خشک کرد.

در بورت هایی که نوار shcellbach برروی آنها رسم شده نقطه صفر بورت باید در محل تلاقی دو نوک پیکان از قسمت های بالا و پایین باشد.

در این مرحله آب درون بورت را تا ۵ میلی لیتر بالاتر از حجم اسمی درون ظرف توزین (ارلن مایر) خالی می کنیم شیر بورت ها باید کاملاً باز بوده و نوک بورت هیچ گونه تماسی را با ظرف توزین نداشته باشد.

بعد از گذشت ۳۰ ثانیه (delivery time) تقعر مایع را دقیقاً بر روی مقدار حجم اسمی بورت قرار می دهیم. در این مرحله باید شیر بورت را به آرامی تنظیم کرد تا مایع قطره قطره خارج شود. قطرات انتهایی نوک بورت را با تماس ظرف توزین با نوک

بورت از آن خارج می کنیم. (این مرحله بهتر است به دلیل جلوگیری از تبخیر سطحی سریع انجام شود یا حتی درب ارلن مایر را باید مسدود کرد).

وزن ظرف توزین به همراه مایع درون آنرا ثبت می کنیم. عدد بدست آمده را در محاسبات نهایی وارد کنید.

تذکرات:

بهتر است پرکردن بورت را توسط یک پیپت با لوله جانبی بلند انجام دهیم. به دلیل جلوگیری از خطا نباید وزن مایع توزین را با صفر کردن ترازو محاسبه کرد بلکه اختلاف مقدار وزن خالی ظرف توزین و ظرف توزین به همراه مایع، وزن مایع خواهد بود.

سرعت عمل و تکرار نتایج جهت بدست آوردن مقدار مطلوب می تواند موثر باشد.

کنترل کیفی پیپتور

پیپتور دستگاه بسیار ساده ای که حاوی یک مخزن مایع و یک پیپت دو راهه است بطوری که با کشیدن پیستون مایع از یک راه وارد پیپت شده و با فشردن پیستون مایع از راه دیگر خارج می شود. از پیپتور برای سرعت عمل و انتقال یک حجم معین از یک مایع بخصوص با حجم استوک استفاده می شود.

برای انجام کنترل کیفی از یک بشر یا استوانه مدرج کلاس A استفاده می شود بدین ترتیب که حجم معینی را توسط اهرم یا پیچ تنظیم مشخص نموده سپس مخزن را با آب مقطر پر می کنیم. با کشیدن و فشردن پیستون حجم مشخصی از آب مقطر وارد بشر یا استوانه مدرج کلاس A می شود که با خواندن حجم آن کالیبره بودن پیپتور بدست می آید. باید دقت نمود نحوه صحیح خوانش عدد استوانه مدرج یا بشر به موزات چشم فرد می باشد و در صورت صحیح نبودن زاویه خوانش عدد خوانده شده صحیح نخواهد بود.

کنترل کیفی قطره چکان (dropper)

برای کنترل کیفی قطره چکان ابتدا باید از سالم بودن قطعه پلاستیکی متصل به نوک شیشه ای یا پلاستیکی شفاف اطمینان حاصل کرد.

قطره چکان های مورد استفاده در آزمایشگاه معمولاً حجمی برابر با ۵۰ لاندا در هر بار فشار قطعه پلاستیکی توزین می نمایند.

برای اطمینان از صحت حجم مورد انتظار قطره چکان به روش زیر اقدام می شود

ابتدا یک کاپ یا ظرف کوچک تمیز را انتخاب نموده و آنرا در وسط صفحه ترازوی دیجیتال کالیبره شده قرار می دهیم . برای

اطمینان از درستی توزین ۱۰ قطره که معادل ۵۰۰ لاندا (نیم سی سی) از آب مقطر می باشد را در داخل کاپ ریخته و عدد توزین را مشخص می نماییم . میزان دقت منفی مثبت ۰/۰۱ می باشد که این عدد گاهها بسته به کیفیت قطعه پلاستیکی قطره چکان تا ۰/۰۲ نیز قابل قبول می باشد .

در هنگام خرید قطره چکان دقت به کیفیت قطعه پلاستیکی ضروری می باشد قطعات پلاستیکی خیلی خشک و دارای ترک نامناسب بوده و در طی استفاده حجم نامشخصی از محلول را تخلیه می نمایند .

برای کارهای کمی دقیق در آزمایشگاه استفاده از قطره چکان توصیه نمی شود اما برای انجام کارهای کیفی یک وسیله سریع و قابل اعتماد بوده و سرعت عمل کارکنان آزمایشگاه را بالا می برد .

پوآر

پوآر یک وسیله مکش برای اتصال به پیپت می باشد هر چند کالیبراسیون پوآر دارای ارزش علمی و حساسیت لازم در آزمایشگاه نمی باشد اما دقت در حین استفاده از پوآر متصل شده به پیپت الزامی می باشد که شامل موارد زیر است:

- همواره پوآر را به یک پیپت تمیز متصل نمایید.
- دقت به محل مکش و تخلیه برای کارکنان آزمایشگاه الزامی می باشد تا در هنگام مکش بیش از حد مایع داخل پیپت نشود . در صورت ورود مایع به داخل پوآر کارایی آن از بین رفته و همچنین موجب آلودگی آن خواهد شد.

- * پوآر را همیشه به دور از گرد و غبار نگهداری شود
- * در صورت که پوآر حالت الاستیکی خود را از دست داده است آن را کنار گذاشته و بدلیل احتمال آلودگی با مواد سمی یا بیولوژیک تحویل زباله سوزی شود.
- * رها کردن پوآر های از کار افتاده در محیط آزمایشگاه ممنوع بوده و موجب ایجاد سردرگمی برای کارکنان آزمایشگاه می شود
- * استفاده از پوآر جزو الزامات آزمایشگاه بوده و باید به اندازه نیاز کارکنان در بخش فنی موجود باشد.
- * از بکار بردن پوآر هایی که رنگ اولیه آنها از بین رفته و یا تغییر رنگ داده اند باید خودداری شود زیرا موجب ریزش ذرات لاستیک در مایع برداشتی شده و ممکن است در نتیجه آزمایش تاثیر گذار باشد .

آنالیزور های خون شناسی آزمایشگاه

آنالیزورهای آزمایشگاه خون شناسی از سه بخش تشکیل شده اند:

- ۱- **Hydraulic** مسئول برداشت محلول ها، برداشت مقدار مشخصی از نمونه، رقیق کردن نمونه و افزودن محلول های لیز کننده به خون
- ۲- **Pneumatic** مسئول ایجاد خلاء برای تولید فشار منفی برای باز و بسته کردن دریچه های دستگاه

۳- **Electronic** بخش پردازش و تحلیل اطلاعات

اساس کار سل کانترها معمولاً بر پایه یکی از اصول زیر است:

- اصل مقاومت الکتریکی (Electrical Impedance)

- بکارگیر مجموعه ای از قوانین فیزیک نور
- فلوسایتومتری
- استفاده از آنزیم های سیتوشیمیایی یا واکنش سیتوشیمی به منظور شناسایی سلول ها

دستگاه های بر پایه مقاومت الکتریکی بصورت متداول در اکثر آزمایشگاه ها بویژه در آزمایشگاه های مراکز بهداشت بکار گرفته می شود که اساس آن بطور خلاصه توضیح داده می شود و از توضیح سایر تکنولوژی های بکار گرفته شده در دستگاه های سل کانتر صرف نظر می شود.

روش مقاومت الکتریکی

امپدانس الکتریکی یا امپدانس روزنه ای از روش های بسیار رایج در سل کانترها می باشد. سلول های خونی در برابر امواج مستقیم الکتریسیته به عنوان عایق بیولوژیک عمل می کنند. برای شمارش سلول های خونی، آنالیزور در ابتدا خون را در چامبر شمارش با محلول ایزوتون که هادی جریان الکتریسیته است، رقیق می کند. در داخل چامبر شمارش، لوله ای استوانه ای قرار دارد که از طریق یک روزنه با چامبر شمارش در ارتباط است. بین الکتروود خارجی در چامبر و الکتروود داخلی در لوله استوانه ای، یک جریان الکتریکی پیوسته با فرکانس پایین از طریق روزنه برقرار است. با نیروی مکش (خلاء) حجم خاصی از سوسپانسیون سلولی از چامبر شمارش به داخل لوله استوانه ای از طریق روزنه کشیده می شود. هر سلول در هنگام عبور از منطقه حساس شمارش (روزنه)، ایجاد مقاومت الکتریکی متناسب با حجم و اندازه خود می کند که اصطلاحاً پالس یا نبض نامیده می شود. ارتفاع پالس متناسب با حجم سلول و تعداد آن نشاندهنده تعداد سلول هاست.

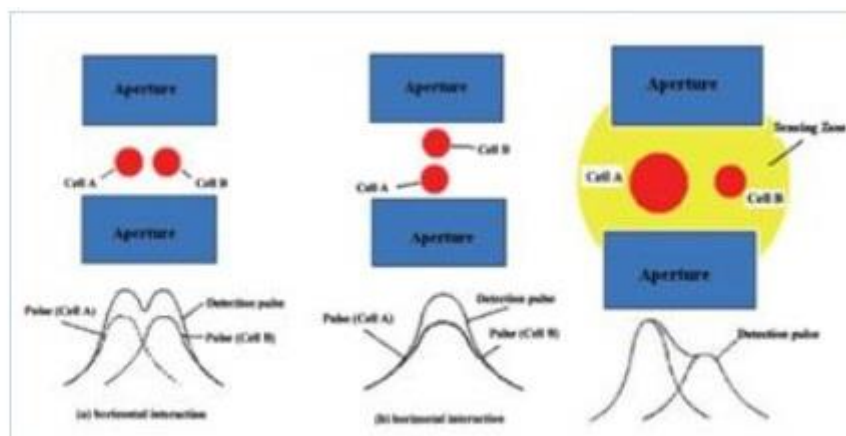
آنالیزور برای شمارش گلبول های سفید، ابتدا نمونه خون را رقیق کرده و به آن معرف Lysing اضافه می کند. لیزینگ گلبول های قرمز را لیز کرده، از محیط شمارش خارج می کند و همچنین هموگلوبین را به سیانومت هموگلوبین تبدیل می کند که با روش

اسپکتروفتومتری توسط آنالیزور اندازه گیری می شود. شمارش گلبول های قرمز و پلاکت ها در محفظه جداگانه ای صورت می گیرد. نمونه خون با ایزوتون رقیق شده و وارد چامبر می شود. در این مورد، رقیق سازی بسیار بیشتر از رقیق سازی گلبول های سفید می باشد. پالس های ایجاد شده بر مبنای ارتفاع و دامنه پالس دسته بندی شده و به صورت نمودار یا هیستوگرام ترسیم می شوند.

عوامل مداخله گر در آنالیزورهای امیدانسی

پدیده عبور همزمان (Coincidence error)

عبور همزمان چند سلول از روزنه، ایجاد یک پالس الکتریکی پهن می کند که به عنوان یک سلول بزرگ شمارش می شود. در آگلوتیناسیون سرد، لکوسیتوز و پلی سیتمی این پدیده رخ می دهد که نتیجه آن کاهش کاذب شمارش سلولی می باشد. می توان با کاهش غلظت سلول ها و یا کوچک کردن اندازه روزنه، میزان خطای عبور همزمان را کاهش داد. با این وجود، کاهش غلظت سلول ها، خطای ناشی از رقیق کردن نمونه و خطای مربوط به شمارش را افزایش می دهد و نیز در صورت آلوده بودن محلول رقیق کننده با ذرات خارجی، شمارش کاذب را باعث می شود. با کوچک کردن روزنه، مشکل مسدود شدن نسبی یا کامل روزنه با مواد خرده ریز مانند لاشه سلولی، مسئله ساز خواهد شد.



عبور همزمان سلول‌ها از روزنه شمارش، موجب تولید موج M شکل یا موج ناهنجار بزرگ و پهن می‌گردد.

عبور غیرمرکزی ذرات یا جریان غیرمحوری ذرات

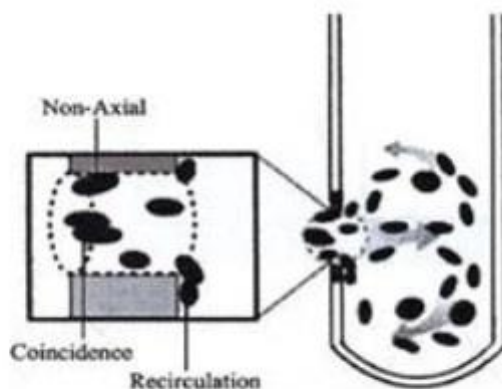
در سیستم امیدانسن چنانچه سلولی دقیقاً از مرکز روزنه عبور کند، تولید ولتاژی متناسب با حجم خود خواهد کرد. عبور سلول‌ها از اطراف روزنه، تولید ولتاژ بیش از حد می‌کند که در نتیجه موجب گزارش اشتباه در شناسایی سلول‌ها می‌شود. برای رفع این پدیده، برخی از آنالیزورها با سیستم ویرایشگر، پالس‌های با ارتفاع بسیار بلند را که در اثر عبور ذرات از کناره‌های روزنه بوده، حذف کرده و در برخی دیگر با استفاده از محلول Sheath سلول‌های خونی را به طرف مرکز روزنه هدایت می‌کنند.

پدیده گردابی یا بازگردشی (Pulse recirculation)

گاهی اوقات سلول‌هایی که از روزنه خارج شده اند دچار حرکت گردابی یا بازگردشی شده و دوباره به روزنه نزدیک می‌شوند و پالس‌های کوتاهی شبیه پالس‌های پلاکتی ایجاد می‌کنند که در نهایت منجر به افزایش کاذب در شمارش پلاکت‌ها خواهند شد.

سلول‌های دارای حرکت گردابی حتی ممکن است وارد روزنه شده و از نو شمارش شوند و بدین ترتیب شمارش کاذب اریتروسیت‌ها را نیز افزایش می‌دهند. در برخی از آنالیزورها یک جریان جاروب‌گر در پشت ناحیه حساس روزنه قرار دارد که سلول

های شمرده شده را از ناحیه روزنه دور کرده و از ایجاد پدیده گردابی جلوگیری می کند.



شکل ۳-۴: پدیده گردابی یا بازگردشی

برای کاهش دادن پدیده عبور همزمان و پدیده بازگردشی، از تکنولوژی تمرکز هیدرودینامیک یا از مایع غلاف (Sheath fluid) استفاده می شود. مایع غلاف دارای دانسیته بالا بوده و مانند غلافی مسیر عبور سوسپانسیون را از روزنه احاطه می کند و از این رو موجب می شود که سلول ها در یک حرکت خطی از مرکز روزنه عبور کنند.

فاکتور شکل (Shape factor)

شکلی که سلول به هنگام عبور از روزنه به خود می گیرد، می تواند حجم ظاهری اندازه گیری شده توسط دستگاه را تحت تأثیر قرار دهد. عبور گلبول های قرمز از روزنه بصورت سیگار شکل است، بنابراین چنانچه گلبول قرمز فوق العاده هیپوکروم باشد، مانند مورفولوژی Anulocyte و یا Leptocyte که تنها غشای گلبول قرمز بصورت حلقه ای باقی است، در هنگام عبور از روزنه، سیگاری بسیار کشیده شده و در نهایت MCV کمتر از میزان واقعی گزارش می شود. متعاقب این حالت، میزان هماتوکریت نیز کاهش یافته و پارامتر MCHC بطور کاذب افزایش می یابد. گلبول

های قرمز با مورفولوژی اسفروسیت قابلیت سیگاری شدن نداشته و میزان MCV آنها تا ۱/۵ برابر مقدار واقعی گزارش می شود.

منابع خطا در شمارش سلول ها و اندازه گیری پارامترها

لکوسیتوز کاذب

لیز نشدن گلبول های قرمز: مقاومت گلبول های قرمز در برابر لیز با محلول لیزینگ سل کانتیر موجب افزایش کاذب گلبول های سفید می شود. در اینصورت گلبول قرمز به عنوان لنفوسیت شمارش شده و درصد لنفوسیت بطور کاذب افزایش پیدا می کند. لیز نشدن گلبول های قرمز در موارد متعددی رخ می دهد، از جمله: حضور NRBC، تجمع پلاکتی، وجود پلاکت های غول آسا، گلبول های F دوران جنینی نوزادی، تارگت سل در بیماری های کبدی، گلبول های قرمز در هموگلوبینوپاتی ها رایوگلوبولین و پاراپروتئین ها، هیپرلیپیدمی و حضور شیلومیکرون، وجود انگل مالاریا.

تشخیص افزایش کاذب میزان هموگلوبین ممکن است مشکل باشد زیرا که در چنین حالتی هیستوگرام ها و اندکس های گلبول قرمز طبیعی بنظر می رسند. شایعترین حالات افزایش کاذب هموگلوبین، از تغییر در کدورت محلول درابکین ناشی می شوند که عبارتند از: لکوسیتوز، هیپرلیپیدمی، هیپرپروتئینمی و عدم لیز اریتروسیت ها. زمانی که لکوسیتوز عامل کدورت درابکین باشد، می توان با سانتریفیوژ کردن لوله و استفاده از محلول رویی جهت خوانش، این مشکل را برطرف کرد. البته در برخی آنالیزورهای جدید هماتولوژی، کانال هموگلوبین از کانال شمارش WBC جدا شده و با استفاده از یک محلول لیز کننده قوی که گلبول های سفید را نیز لیز می کند، بطور کامل مشکل را برطرف کرده اند.

کدورت به هر علتی که باشد، با افزایش کاذب غلظت هموگلوبین MCH و MCHC را نیز بطور باور نکردنی بالا می برد. از آنجا که پارامتر MCHC تنها در اسفروسیتوز ارثی و یا اسفروسیتوز ناشی از کم خونی اتوایمیون بالا می رود، افزایش آن را می توان بعنوان هشدار بر وقوع خطا در اندازه گیری هموگلوبین در نظر گرفت، مگر اینکه اسفروسیتوز در بیمار اثبات شود.

منابع خطا در اندازه گیری هماتوکریت

اکثر آنالیزورهای هماتولوژی هماتوکریت را از حاصلضرب MCV در میزان RBC محاسبه می کنند و بنابراین عوامل خطا در MCV و RBC می توانند باعث ایجاد خطا در میزان هماتوکریت شوند.

روش های کنترل کیفی به دو دسته کنترل کیفی داخلی و کنترل کیفی خارجی طبقه بندی می شوند. کنترل کیفی داخلی بطور اولیه دقت و تکرارپذیری آزمایش های روزانه را کنترل می کند و دارای روش های گوناگونی می باشد. کنترل کیفی خارجی از طریق سازمان های منطقه ای مانند اداره کل آزمایشگاه مرجع سلامت یا آزمایشگاه رفرانس هر استان انجام گرفته و هدف آن نظارت بر کنترل کیفی داخلی آزمایشگاه است. در این روش، نمونه های مشخص به تمام آزمایشگاه ها ارسال شده و از آزمایشگاه درخواست می شود که نمونه را همراه با نمونه های بیماران آزمایش کرده و جواب ها را برای سازمان ارسال کنند.

خطاهای مشاهده شده در حین کار به دو دسته سیستمیک و تصادفی تقسیم می شوند. خطای سیستمیک قاعده مند بوده و تا زمانی که علت ردیابی نشود نتایج تمام آزمایش ها را با الگوی یکسان تحت تأثیر قرار می دهد. از این رو در چارت کنترل کیفی از نظم برخوردار بوده و معمولاً بصورت شیب کاهنده یا افزایشنده و یا الگوی

جایابی نمایان می شود و بر خلاف خطای تصادفی با تکرار آزمایش برطرف نمی شود. برای کشف خطای سیستمیک نیاز به داده های خون کنترل در چندین روز است.

خطای تصادفی یکسری از نتایج را تحت تأثیر قرار داده و اثرات قابل توجهی بر روی میزان انحراف معیار می گذارد. تکرار آزمایش غالباً پاسخ درست می دهد.

منبع :

- مبانی تضمین کیفیت در آزمایشگاههای محیطی و حدواسط ، ترجمه زهرا خاتمی ،
سازمان جهانی بهداشت دفتر

منطقه ای شرق مدیترانه

- نشریه مهندسی پزشکی شماره ۱

- جزوات و دستورالعمل های اداره کل آزمایشگاه مرجع سلامت، تالیف دکتر شهلا
فارسی