اتوآنالایزر

محمدرضا یزدانی کارشناس آزمایشگاه‌های علوم نوین دانشگاه علوم پزشکی شیراز

در ابتدا در بخش بیوشیمی برای دستگاه‌هایی که تعداد زیادی تست را با حداقل درگیری پرسنل انجام می‌دادند واژه اتوماسیون به کار برده می‌شد، اما بعداً به این تعریف واژه مکانیزاسیون اطلاق شد. انجمن بین‌المللی شیمی محض و کاربردی، اتوماسیون را به‌صورت جایگزین تلاش‌ها و فعالیت‌های انسان در انجام یک فرآیند با مسائل و ابزار مکانیکی که دارای خصوصیات خودتنظیمی باشد، تعریف می‌کند.

آنالیزرهای بیوشیمیایی دستگاه‌هایی هستند که غلظت متابولیت‌ها، الکترولیت‌ها، پروتئین‌ها، داروها در سرم و سایر مایعات بدن را با دقت و صحت بالا اندازه‌گیری می‌کنند. اولین اتوآنالیزر در سال 1957 توسط Skeggs در شرکت تکنیکون ساخته شد.

مفاهیم و تعاریف:

ساختار اتوآنالایزر (Analyzer configuration) یک وسیله خودکار است که توسط سازنده آن به‌صورت یکپارچه (Integrated) یا قسمت‌قسمت ساخته می‌شود. سیستم یکپارچه به‌صورت باز (Open) و بسته (Close) هستند. در سیستم‌های Open تکنسین می‌تواند پارامترهای تست را تغییر داده و محلول‌های موردنیاز را از هر فروشنده‌ای خریداری کند. در سیستم‌های Close پارامترهای تست توسط سازنده برنامه‌ریزی شده و قابل‌تغییر نیستند، به‌علاوه محلول‌های موردنیاز هم خاص دستگاه هستند و باید از یک منبع واحد تهیه شوند.

تعاریف و مفاهیم پردازش نمونه توسط اتوآنالایزرها

- **Batch Analyzer**: نوعی آنالیزر است که در هر بار تعدادی از نمونه‌ها را مورد آزمایش قرار می‌دهد.
- **Continuous Flow**: هر نمونه از مجموعه‌ها تحت‌تأثیر یک سری از آزمایش‌ها که برای هر نمونه یکسان است، قرار می‌گیرد.

- **Discrete Analyzer**: در این نوع هر نمونه برای خود دارای فضای فیزیکی و شیمیایی خاص بوده که از فضای سایر نمونه‌ها جدا می‌باشد. بسیاری از آنالیزرهای رومیزی از سیستم Discrete استفاده می‌کنند. نمونه‌ها در کاپ‌های مخصوص در درون سینی خاصی قرار گرفته و از طریق صفحه کلید برای هر نمونه، تست موردنظر انتخاب می‌شود.
- **Multichannel Analyzer**: در این روش هر نمونه می‌تواند از نظر چند آنالیت موردبررسی قرار گیرد؛ یعنی می‌توان برای هر نمونه چند تست انجام داد.
- **Parallel Analyzer**: تمام نمونه‌ها به‌طور هم‌زمان از نظر یک تست آزمایش می‌شوند. آنالایزرهای سانتریفیوژی نمونه‌ای از این گروه هستند.
- **Random Access Analyzer**: در این روش می‌توان در هر زمان و برای هر نمونه تست موردنظر را انتخاب و اجرا کرده و رعایت هیچ‌گونه ترتیبی اجباری نیست. در این نوع آنالایزرها تست‌های قابل انجام و نیز نمونه‌های بیماران از طریق صفحه کلید انتخاب شده و انجام می‌شوند.

انواع اتوآنالایزر از نظر Reagent

- سیستم‌هایی که با راژنت مایع کار می‌کنند: این دستگاه‌ها مقدار زیادی از محلول‌ها را که ممکن است برای ساعت‌ها و حتی روزها کار دستگاه کفایت کند در محفظه مخصوصی نگهداری می‌کنند. بعضی از این دستگاه‌ها دارای یخچال برای نگهداری محلول است.
- سیستم‌هایی که با راژنت خشک کار می‌کنند: راژنت‌های مورداستفاده در این دستگاه‌ها مثل Paramax به‌صورت قرص خشک شده هستند. این قرص‌ها در درون یک محفظه قرار داشته که سرم و رقیق‌کننده مناسب به آن اضافه می‌شوند و این کار باعث حل شدن قرص و شروع واکنش می‌شود. راژنت‌های خشک هرچند از نظر قیمت گران‌تر از مایع هستند ولی به علت پایدار بودن، مشکل نگهداری ندارند.
- بعضی از سیستم‌ها نیز راژنت‌های چندبار مصرف را به کار می‌برند که معمولاً این راژنت‌ها آنتی‌بادی یا آنزیم هستند.

نحوه کار با اتوآنالایزر:

به علت تنوع سیستم‌های اتوآنالیزر نحوه کار با آن‌ها نیز متنوع می‌باشد، ولی به‌طورکلی بعد از خرید آنالایزر اگر سیستم آنالایزر Open باشد اولین کار، سوار کردن پارامتر بر روی دستگاه است که برای این کار شما باید کیت‌های موردنظر را خریداری کرده و از شرکت تهیه‌کننده کیت، پارامتر مربوط به آنالایزر خود را تحویل بگیرید، سپس پارامتر تست موردنظر را در قسمت تنظیمات دستگاه وارد نمایید و بعد از آن با استفاده از استاندارد یا کالیبراتور معتبر اقدام به کالیبر کردن تست موردنظر روی دستگاه کنید. در این مرحله شما موفق شده‌اید تست را روی دستگاه اتوآنالایزر Set کنید. بعد از آن می‌توانید اقدام به انجام آزمایش با اتوآنالایزر بکنید. هرکدام از مراحلی را که برای انجام آزمایش لازم است واحد عملیاتی (Unit Operation) می‌گویند. این مراحل عبارتند از:

* **شناسایی نمونه:** به‌طورکلی شناسایی ارتباط بین نمونه و بیمار در بالین بیمار صورت می‌گیرد. در گذشته از روش‌های مختلفی مانند رونویسی دستی، وارد کردن کد پذیرش بیمار در دستگاه و یا اختصاص دادن شماره به هر مریض استفاده می‌شد ولی به علت خطای زیاد امروزه از تکنولوژی Bar coding استفاده می‌شود. در این روش یک برچسب که بر روی آن بارکد زده شده در بالین بیمار به ظرف نمونه وصل می‌شود و سپس این برچسب توسط بارکدخوان، خوانده می‌شود و اطلاعات وارد سیستم می‌شود. استفاده از بارکد مزایای زیادی دارد که بهترین آن کاهش خطای رونویسی از 1 مورد به ازای 300 حرف توسط انسان به یک مورد به ازای یک میلیون حرف توسط دستگاه می‌باشد.

G **آماده‌سازی نمونه (Specimen Preparation):** در اکثر دستگاه‌ها نمونه مورداستفاده سرم می‌باشد. این سرم باید شفاف و بدون فیبرین (برای دستگاه مشکل ایجاد نکند) باشد. برای گرفتن سرم باید نمونه لخته را 10 دقیقه در دور 3000 سانتریفیوژکرد ولی بعضی از دستگاه‌ها نیاز به جداسازی نمونه ندارند و می‌توانند آزمایش را روی خون کامل نیز انجام دهند.

G **حمل‌ونقل و وارد ساختن نمونه (Specimen Handling):** متعاقب تهیه سرم مقداری از آن را به یک ویال کوچک یا Cup منتقل می‌کنند و در منطقه نمونه‌برداری قرار می‌دهند، هرچند سیستم‌هایی مثل Dax و SYNCHron می‌تواند مستقیماً نمونه سرم را از ظروف اولیه خون‌گیری بردارند. کاپ‌ها را باید شماره زد و به ترتیب در سینی نمونه (Sample) چید. شکل و اندازه کاپ‌ها یا لوله‌ها توسط نوع دستگاه مشخص می‌شود ولی یک کاپ خوب باید دارای خصوصیات زیر باشد:

a) فضای مرده (Dead volume) آن حداقل باشد؛ یعنی مقدار سرم اضافی که باید درون کاپ باشد تا دستگاه قادر به آسپیره کردن آن باشد، حداقل باشد.

b) شکل کاپ به گونه‌ای باشد که کمترین تبخیر را داشته باشد و حتی‌المقدور دارای درب باشد.

c) جنس کاپ باید از مواد خنثی مانند پلاستیک PVC یا شیشه باشد تا با سرم واکنش ندهد و حتی‌الامکان یک‌بار مصرف باشد.

d) برای نمونه‌های حساس به نور مثل بیلی‌روبین یا باید کاپ رنگی باشد و یا محل قرار گرفتن آن روکش دودی داشته باشد.

- **وارد ساختن نمونه به دستگاه**: روش وارد ساختن نمونه در دستگاه‌های Continuous Flow با دستگاه‌های Discrete متفاوت است. در دستگاه‌های جریان ممتد (C.Flow) مثل Technicon از پمپ‌های پریستالیتیک استفاده می‌شود در این پمپ‌ها یک لوله لاستیکی بین دو غلطک قرار داشته و حرکت غلطک‌ها باعث جریان یافتن مایع در درون لوله می‌شود. در سیستم Discrete نمونه با استفاده از پی‌پت‌های خودکار نمونه و همراه با محلول‌های آزمایش وارد یک محفظه مخصوص می‌شود. در هر دو روش از یک سرنگ شیشه‌ای استفاده می‌شود که در نوک پیستون آن یک واشر تفلونی قرار دارد. کنترل دقیق سرعت مکش و تخلیه سرنگ بسیار اهمیت دارد. واشر تفلونی باید هر ماه یک‌بار عوض شود. عدم دقت و صحت این سرنگ‌ها نبایستی بیش از 1٪ باشد. برای کنترل این کار می‌توان از دو روش چگالی‌سنجی و نوری استفاده نمود.

- **انتقال محلول و نگهداری آن‌ها (Reagent Handling)**: امروزه دستگاه‌ها توسط بارکد روی محلول‌ها اطلاعات مربوط به محلول‌ها مثل نوع راژنت، حجم، تاریخ انقضاء و غیره را به دست می‌آورند. انتقال محلول به دستگاه نیز مثل انتقال نمونه یا با سرنگ و یا با پی‌پت انجام می‌گیرد.

- **واکنش شیمیایی (Chemical Reaction)**: به عوامل زیر بستگی دارد:

a) ظرف یا محفظه‌ای که واکنش در آن انجام می‌شـــود: در سیستم‌های جریان ممتد (Continuous Flow) مواد واکنش‌دهنده در درون یک لوله جا گرفته و پس از مخلوط شدن خارج و وارد یک لوپ شده و در آنجا به دمای موردنظر می‌رسد. زمان برحسب مسافتی که جریان سیال در درون لوله طی می‌کند محاسبه شده و در مرحله آخر اندازه‌گیری صورت می‌گیرد، ولی در سیستم منقطع (Discrete) اغلب ظرف واکنش همان کووت است که می‌تواند یک‌بار مصرف (اتوآنالایزر Dimension)یا چندبار مصرف (RA 1000) باشد. زمان جایگزینی کووت‌ها بستگی

به جنس آن‌ها داشته ولی معمولاً برای کووت پلاستیکی یک ماه و برای کووت شیشه‌ای دو سال می‌باشد.

b) **مخلوط کردن:** برای مخلوط کردن محلول و نمونه از روش‌های مختلفی مثل تخلیه محلول با فشار استفاده می‌کنند، مثلاً در دستگاه RA1000 محفظه‌ای که ظرف واکنش در آن قرار می‌گیرد یک انکوباتور 37 درجه است و در دستگاه هیتاچی از یک بن‌ماری 37 درجه استفاده می‌شود.

c) **زمان واکنش:** تابعی از پارامتر کیت، مدت زمان انتقال واکنش‌دهنده‌ها به محل اندازه‌گیری و غیره است.

d) **روش اندازه‌گیری:** آنالایزرهای مختلف تنوع زیادی از نظر روش‌های اندازه‌گیری فتومتری، فتومتری انعکاسی (نور منعکس‌شده اندازه‌گیری می‌شود مثل سیستم راژنت خشک) فلورومتری، کمی‌لومینسانس و Electrochemistry را به کار می‌برند.

در روش فتومتری نیاز به یک منبع نور، یک وسیله جداسازی طیف موردنظر و یک آشکارسازی است. منبع نوری می‌تواند لامپ تنگستن اگزنون (عمر و شدت نور بالاتر) هالوژن، کوارتر، دوتریم، جیوه و لیزر باشد. نور حاصله معمولاً دارای طول‌موج 700-200 نانومتر است. برای جداسازی طیف موردنظر از فیلتر داخلی استفاده می‌شود. این فیلترها دارای پیک عبوری 80-30 درصدی و پهنای باند 15-5 می‌باشند. در بعضی از سیستم‌ها از تکفام‌سازها (مونوکروماتور) یا Grating متحرک استفاده می‌کنند و در بعضی دیگر فیلتـــــــــــــــرها در چرخ فیلتر (Filter Whecl) قرار می‌گیرند و فیلتر موردنظر در زمان مناسب توسط نرم‌افزار در محل اندازه‌گیری قرار می‌گیرد. سیستم‌های جداسازی طیف متنوع‌اند. اجزاء لازم برای فتومتری به‌صورت مجتمع هستند و تشکیل قسمتی به نام Electro-optical را می‌دهند. این Package باید بتواند جذب نوری تا 2.5A را قرائت کند. میزان noise آن نباید برای یک واحد جذب نوری (1A) بیشتر از 0/0005 واحد جذب موردی باشد. محدوده طیفی (Spectral range) بین 650-340 نانومتر مناسب است.

توصیه‌های کلی برای اتوآنالایزر:

- آنالایزر باید در مکانی دور از جریان مستقیم هوا (پنجره و ...) قرار بگیرد.
- برای انجام تست با اتوآنالایزر استفاده از کنترل معتبر در هر Run دستگاه الزامی است. قبل از رد شدن جواب تست باید با استفاده از چارت کیوسام یا لووی جینیگ در محدوده بودن کنترل‌ها تائید شود.
- استفاده از کنترل به‌جای کالیبراتور برای دستگاه اتوآنالایزر ممنوع است.
- باید برنامه‌های نگهداری دستگاه مطابق با بروشور سازنده باشد.
- برای شستشوی کووت‌های اتوآنالایزر ترجیحاً از محلول‌های کووت کلین استفاده کنید.
- سرویس کلی و سالیانه اتوآنالایزر توسط نمایندگان شرکت الزامی است.
- در صورت خارج از رنج بودن کنترل، یا تفاوت زیاد عدد کالیبراتور با عدد به دست آورده شده توسط دستگاه باید تست را کالیبر و از تغییر دادن فاکتور دستگاه خودداری نمود. تغییر فاکتور دستگاه برای اختلافات جزئی در خوانش تست‌ها صورت می‌گیرد.
- از به‌کارگیری قطعات و تجهیزات سایر اتوآنالایزرها برای اتوآنالایزر آزمایشگاه خودداری نمایید.
- به‌منظور عمر بیشتر دستگاه و آسیب نرسیدن به دستگاه، دستگاه را به یک تثبیت‌کننده جریان برقی وصل نمایید.

کنترل کیفی آنالیزر بیوشیمی:

کنترل کیفی سرعت مکش (Aspiration) و کنترل سرعت تخلیه (Dispense)

اکثر اتوآنالیزرها از یک پمپ برای برداشت نمونه‌ها، کنترل‌ها، استانداردها و Reagent استفاده می‌کنند، درنتیجه به خاطر متفاوت بودن ویسکوزیته این مواد با یکدیگر ممکن است در مقدار موردنظر خطا ایجاد شود که این خطا در اتوآنالیزرهای نسل جدید توسط نرم‌افزار مخصوصی تصحیح شده است. از طرف دیگر سرنگ نمونه (سمپل) با داشتن یک قسمت تفلونی در سر خود موجب روانی سرنگ و عدم جذب حباب هوا و ... می‌شود. نسبت مقدار نمونه به مقدار معرف در صحت نتایج بسیار مهم بوده و ثابت بودن این نسبت موجب دقت بالا و تکرارپذیری نتایج می‌گردد. کنترل دقت و صحت سرنگ (پروب) سمپل و ریاجنت هر سه ماه یک‌بار ضروری است.

کنترل کار پروب‌ها بر اساس آزمایشگاه رفرنس: بر روی یک نمونه، 20 بار آزمایش آلبومین را انجام می‌دهیم. علت انتخاب آلبومین این است که کمترین میزان نمونه و بیشترین میزان معرف را دارد. CV نباید بیشتر از 3٪ باشد.

G Carry Over (اثر یک نمونه روی نمونه بعدی):

ازآنجایی‌که قرائت نمونه‌ها در یک مسیر و به‌صورت متوالی انجام می‌شود، ممکن است در عمل موجب بروز تداخلاتی در نمونه‌های متوالی گردد که به این پدیده Carry Over گفته می‌شود.

برای اجرا روش‌های متعددی وجود دارد که در اینجا سه روش بیان شده است:

- **روش 1:** ساده‌ترین راه این است که کاپ‌های سرم کنترل با غلظت بالا را به‌صورت یک‌درمیان با آب مقطر قرار داده و سپس تست را اجرا کرد. هرگونه افزایش جواب برای کاپ‌های آب مقطر به دلیل Carry over بوده و درصد آن را می‌توان محاسبه نمود.
- **روش 2:** استفاده از سه نمونه متوالی و اجرای تست است، به‌عنوان مثال برای تست قند نمونه اول با غلظت پائین (80) و نمونه دوم با غلظت بالا (400) و نمونه سوم همان نمونه اول است. پس از قرائت نمونه‌ها توسط دستگاه نتایج به دست آمده و Carry Over محاسبه می‌گردد. حداکثر Carry Over مجاز 1٪ است.
- **روش 3:** کنترل Carry Over بر اساس روش آزمایشگاه رفرنس:

a) **نمونه– نمونه:** برای اینکه بفهمیم نمونه‌ها بر یکدیگر اثر دارند یا نه یک نمونه قند بالا را در سه کاپ می‌ریزیم و پشت سر آن سه کاپ نمونه با قند پائین می‌گذاریم و 10 بار آزمایش قند را روی این 6 کاپ انجام می‌دهیم. سپس میانگین نمونه پائینی که با یک نمونه بالا که در کنار هم قرار گرفته بودند ($\overline{X_1}$) را تعیین کرده و بعد میانگین نمونه پائین در کاپ سوم را حساب می‌کنیم ($\overline{X_3}$) و در فرمول زیر می‌گذاریم.

$$K=\frac{\overline{X_1}-\overline{X_3}}{\overline{X_1}}$$

هر چه K به صفر نزدیک‌تر باشد بهتر است.

b) **معرف– معرف:** ابتدا روی 20 نمونه، 20 بار آزمایش OT، LD انجام می‌دهیم و CV را محاسبه می‌کنیم، سپس 10 کاپ را به‌صورت زیر قرار داده و CV هرکدام را می‌گیریم. باید CV هر دو مرحله مساوی باشد.

1-LD, OT 2-OT 3- OT 4- LD, OT 5- OT

6-OT 7-LD, OT 8- OT 9- OT 10- LD, OT

راه‌های پیشگیری از Carry Over:

I. شستشوی خودکار مسیر از شروع تا انتها و داخل فلوسل و پروب بین اجرای تست
II. قابلیت افزایش و یا کاهش زمان و میزان شستشوی پروب‌ها و مسیر فلوسل
III. شستشوی فلوسل و مسیر با میزان زیادی از مخلوط سرم و Reagent قبل از خوانش
IV. استفاده از جنس مرغوب تفلون و تیوب و سرنگ در سیستم‌های جدید و استفاده از مواد پوشاننده سطح داخلی پروب‌ها در سیستم قدیمی (مانند Traf).
V. حذف حباب هوا غبار و عوامل مزاحم مانند مو، کرک و نظیر آن از سیستم

G کنترل کیفی کیت‌های بیوشیمی (Reagent):

کیت‌ها در ظروف پلاستیکی یا شیشه‌ای در دستگاه نگهداری می‌شوند که این ظرف‌ها دارای حجم‌های متغیر از 10 تا 100 میلی‌لیتر هستند. روش‌هایی که از یک معرف استفاده می‌کنند، ترجیح داشته، ولی استفاده از متدهایی با 2 یا 3 معرف هم رواج دارد. در هنگام انتقال معرف‌ها به ظروف مربوطه، دقت شود که حباب هوا و کف در روی سطح محلول ایجاد نگردد، زیرا سوزن نمونه‌برداری در ابتدا به‌جای برداشتن معرف، کف‌های روی آن را برداشت می‌نماید و این موضوع موجب اختلال در واکنش‌های چند تست اولیه می‌گردد.

در برخی دستگاه‌ها قسمت خنک‌کننده در محل معرف‌ها وجود دارد که دمای آن 4 الی 10 درجه سانتی‌گراد توسط فن‌آوری بسیار بالا و دقیقی قابل تنظیم است (Cooling Plate). دمای این قسمت (محل نگهداری معرف) باید هر سه ماه یک‌بار توسط ترمومتر کالیبره چک شود. حد مجاز اختلاف دما تا 1 درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

G کنترل کیفی محل قرائت:

محل قرائت در اتوآنالیزرها به دو قسمت تقسیم می‌شود:

1. کووت محل واکنش و گاهی همان مراحل قرائت است.
2. فلوسل که فقط محلی برای قرائت است.

G کنترل کیفی کووت:

کووت‌های واکنش که در آن قرائت نیز صورت می‌گیرد از جنس Acrylic یا P.V.C بوده و تعویض کووت‌ها در فواصل یک‌ماهه و یا پس از رنگ گرفتن و یا مخدوش شدن ضروری است. باید قبل از استفاده از کووت‌های چندبار مصرف به تمیزی کووت و عدم وجود خش روی کووت توجه نمود و در صورت نداشتن شرایط، کووت را از رده خارج نمود.

روش شستشوی کووت‌ها:

- تخلیه کامل
- شستشوی کامل با معرف رقیق اسیدی یا قلیایی
- شستشوی کامل با آب مقطر یا دیونیزه
- خشک کردن با هوا یا پمپ خلأ

G کنترل دقت:

کنترل دقت شامل Within Run Precision و Between Run Precision است. به وسیله یک سرم کنترل معتبر یک تست را 10 بار اجرا می‌نماییم و میانگین انحراف معیار، SD و CV را محاسبه می‌کنیم. این کار را می‌توان با ریختن نمونه در 10 کاپ مختلف و یا برداشت 10 بار در یک نمونه اجرا کرد. CV٪ قابل‌قبول برای Within Run کمتر از 2/5٪ و برای Between Run کمتر از 5٪ است.

G کنترل صحت (Accuracy):

شامل سه مرحله به شرح ذیل است:

a) تعیین Bias

با استفاده از یک سرم کنترل معتبر تست را 5 بار اجرا می‌کنیم و میانگین جواب‌های به دست آمده را تعیین می‌کنیم و در فرمول Bias قرار می‌دهیم. حداکثر Bias مجاز 2٪ است.

$$\text{Bias}=\frac{\text{عدد به دست آمده}-\text{عدد مورد انتظار}}{\text{عدد به دست آمده}}\times 1$$

b) تعیین خطی بودن Linearity Control

از سرم کنترل معتبر High، غلظت 1/2 و 1/4 و 1/8 و ... تهیه می‌کنیم و تست مربوطه را روی آن‌ها انجام داده و منحنی کالیبراسیون را رسم می‌کنیم. حداکثر عدم خطی بودن در هر غلظت 2٪ است.

c) تست بازیابی یا Recovery Test

با استفاده از یک سمپلر دقیق سرم‌های معتبر Low و High را به نسبت مساوی ترکیب کرده و غلظت آن را قرائت می‌نماییم. درصد Recovery مجاز بالاتر از 98٪ است (یعنی ابتدا عدد کنترل High و نرمال را با هم جمع و میانگین را محاسبه می‌کنیم سپس میانگین را با میانگین به دست آمده از دستگاه مقایسه می‌کنیم).

G کنترل کیفی درجه حرارت:

تنظیم دقیق و ثبات حرارت محفظه واکنش در یک دستگاه اتوآنالیزر موجب افزایش دقت، صحت و تکرارپذیری سیستم می‌گردد. کنترل کیفی درجه حرارت سیستم به دو بخش تقسیم می‌شود:

- کنترل دمای انکوباتور
- کنترل دمای Cooling Plate

کنترل دما به کمک یک موتور دیجیتال دقیق صورت می‌پذیرد و حداکثر خطای مجاز برای انکوباتور 0/1 درجه سانتی‌گراد و در Cooling Plate یک درجه سانتی‌گراد می‌باشد. توجه داشته باشید که ابتدا دمای ترمومتر را به نزدیکی حرارت موردنظر رسانیده و سپس از آن استفاده کنید، چرا که ممکن است دمای محلول‌ها با ورود ترمومتر تغییر کند.

- **کنترل زمان واکنش:**

اندازه‌گیری زمان واکنش به کمک زمان‌سنج استاندارد انجام می‌شود و حداکثر خطای مجاز 5٪ است.

- **کنترل انکوباسیون (طبق نظر آزمایشگاه رفرنس):**

یک نمونه آنزیمی نرمال را 20 بار به دستگاه می‌دهیم. CV نباید بیشتر از 7٪ باشد.

- **کنترل کیفی سیستم فتومتریک:**

دستگاه اتوآنالیزر بیوشیمیایی از نظر سیر نوری به دو دسته تقسیم می‌شود:

1. **Single Beam:** در این نوع آنالیزر یک شعاع نوری وجود دارد و همه تست‌ها (بلانک، استاندارد، کنترل و نمونه‌ها) با آن اندازه‌گیری می‌شود.
2. **Double Beam:** در این نوع آنالیزر شعاع نوری لامپ به دو قسمت تقسیم می‌شود که یکی از آن‌ها از کووت نمونه عبور نموده و سپس به یک فتودتکتور برخورد می‌کند.

در پایان برای اطمینان کامل از عملکرد صحیح دستگاه می‌توان از برنامه‌های QC که در خود دستگاه وجود دارد، استفاده نمود و یا اینکه با استفاده از نرم‌افزارهای Auto Calibration و Auto Diagnostic Soft Ware قسمت‌های عیوب را پیدا و اصلاح کرده و دستگاه را مجدداً کالیبر نمود.

کنترل کیفی فتومتری طبق روش آزمایشگاه رفرنس:

از دی‌کرومات پتاسیم یک محلول 50 میلی‌گرم در لیتر اسیدسولفوریک 0/01٪ درست می‌کنیم که در طول‌موج 350 نانومتر باید جذب نوری آن 0.536±0.0005 باشد.

ملاحظات فنی در خرید اتوآنالیزر بیوشیمی:

- سادگی دستگاه ازلحاظ کار اپراتور و داشتن نرم‌افزار ساده و درعین‌حال کارآمد

- کم‌حجم بودن و پیچیده نبودن دستگاه و امکان نصب آسان و کم‌هزینه آن
- قابلیت برنامه‌ریزی با تمام کیت‌های تولید داخل و خارج (سیستم Open)
- داشتن سرعت آنالیزر بالا با حداقل 150 تست در ساعت
- قابلیت اتصال به سیستم کنترل مرکزی و شبکه رایانه‌ای و چاپگر خارجی
- دارا بودن سیستم Bar Code Reader
- دارا بودن سیستم ISE برای افزایش سرعت دستگاه از طریق اندازه‌گیری فعالیت یونی در خون کامل
- کم‌خرج بودن دستگاه از نظر هزینه نگهداری و قطعات و مواد مصرفی
- تعداد و تنوع آزمایش‌های قابل برنامه‌ریزی
- تعداد نمونه‌های قابل برنامه‌ریزی با در نظر گرفتن حداقل حجم موردنیاز
- امکان استفاده از سرم کنترل و استاندارد در مراحل مختلف کار، جهت حذف خطاهای سیستماتیک
- داشتن سیستم هشداردهنده و سنسورهای حساس به سطح محلول
- دارا بودن برنامه کنترل کیفی و محاسبات آماری و رسم منحنی کالیبراسیون
- توانایی انجام آزمایش‌های اورژانس و تست‌هایی با حجم کم سرم (مانند نمونه نوزاد)
- پایداری درجه حرارت که در طول انجام واکنش قرائت بسیار مهم است.
- حساسیت بالای سیستم فتومتر و تعداد طول‌موج‌های موجود (فیلتر نوری) در دستگاه
- توانایی برداشت معرف بین 100 تا 50 میکرولیتر و نمونه بین 5 تا 150 میکرولیتر
- امکان حذف Carry Over از طریق شستشوی اتوماتیک تیوبیک و سوزن‌ها و فلوسل دستگاه
- ثبات کالیبراسیون و توانایی ذخیره کردن فاکتور تست‌ها
- قابلیت اندازه‌گیری کلیه مایعات بدن
- قابلیت تکرار و رقیق کردن اتوماتیک نمونه‌ها
- دارا بودن Cooling Plate برای جلوگیری از تبخیر معرف‌ها در طول چرخش کاری
- استفاده از آب مقطر برای شستشو و Dilution و عدم نیاز به محلول شوینده خاص
- توانایی انجـــــــــــام انواع روش‌های بیوشیمی مانند Coagulation Time، Absorbance، Bi chromatic، Fixed Time، End Point، Kinitic
- قابلیت تعریف Profileهای مختلف در سیستم
- قابلیت کنترل پمپ پریستالیک و رقیق‌کننده و سرعت مکش و تخلیه توسط نرم‌افزار

- داشتن تائیدیه معتبر بین‌المللی نظیر FDA، WHO و CE و ...

تست و کالیبراسیون قسمت‌های مختلف اتوآنالیزر

A. **قسمت نرم‌افزاری:** هدف از کالیبراسیون نرم‌افزاری یک دستگاه اتوآنالیزر بیوشیمی تطبیق آن با معرف‌های متنوع موجود در بازار است. درواقع در قسمت نرم‌افزاری ما دو کار انجام می‌دهیم:

- پارامتر کیت را که از شرکت توزیع‌کننده کیت تحویل گرفته‌ایم به‌طور صحیح روی دستگاه سوار می‌کنیم.
- با کالیبراتور یا استاندارد معتبر تست را کالیبره می‌کنیم و این کار را به‌صورت دوره‌ای و مداوم در زمان مشخص و موردنیاز انجام می‌دهیم.

B. **قسمت سخت‌افزاری:**

- **قسمت‌های سخت‌افزاری (الکترومکانیکی):**

موتورهای الکتریکی کاربرد وسیعی در دستگاه‌های پزشکی و آزمایشگاهی دارند. وظیفه این موتورها در دستگاه‌های اتوآنالیزر بیوشیمی تولید نیروی لازم جهت حرکت افقی سینی نمونه، سینی واکنش، سینی معرف و نیز حرکت عمودی سوزن‌های نمونه‌برداری و مکش و حرکت پیستون در داخل سرنگ سمپلر و به حرکت درآوردن غلطک پمپ‌های پرسیالتیک و ... است. انتقال نیروی تولید شده توسط موتورهای الکتریکی به اهداف موردنظر از سه طریق صورت می‌پذیرد.

- سیستم انتقال نیرو
- سیستم انتقال نیروی چرخ‌دنده‌ای
- سیستم انتقال نیروی مستقیم

برای تست یک موتور الکتریکی باید آن را به کار انداخت و عمل تعریف‌شده برای آن موتور را تست نمود، به‌عنوان مثال اگر یک موتور الکتریکی وظیفه قرار دادن فیلترهای دستگاه را در مقابل منبع نور به عهده دارد، باید دقیقاً فیلتر تعیین‌شده را در مقابل منبع نوری دستگاه قرار داد. برای کالیبراسیون قسمت‌های سخت‌افزاری و مکانیکی که توسط این موتورها کنترل می‌شوند، باید ابتدا نقطه صفر یا مرجع هر قسمت را برای دستگاه

تعریف نمود، به‌عنوان مثال باید برای دستگاه موقعیت اولین کاپ نمونه مشخص باشد. برای این منظور از یک زائده فلزی و یک سنسور حساس به نور استفاده می‌شود.

روش کنترل سرعت و زمان چرخش در موتور الکتریکی:

1. **روش سخت‌افزاری:** در این روش با تغییر سطح جریان ورودی به موتور از طریق تغییر پتانسیومتر محرک موتور (P) می‌توان سرعت موتور را کم یا زیاد کرد.
2. **روش نرم‌افزاری:** با تغییر تعداد دورهای موتور الکتریکی (Step) می‌توان زمان چرخش موتور را کم یا زیاد نمود.

تست و کالیبراسیون پمپ پریستالیتک:

این پمپ‌ها دو قسمت دارند:

- موتور (در قبل بحث شد)
- شیلنگ سیلیکونی: ازآنجایی‌که لزوم تکرارپذیری انتقال حجم‌ها و مکش مایعات در یک سیستم اتوماتیک ایجاب می‌کند که قطر لوله‌ها و شیلنگ‌ها در طی کار دستگاه ثابت باشد و با توجه به اینکه شیلنگ سیلیکونی به مرور زمان و به علت فرسودگی، خاصیت الاستیسیته خود را از دست داده و باعث تغییر حجم انتقال یافته خواهد شد، ضروری است که اپراتور دستگاه، در فواصل کاری معین (بعد از انجام هر 10 هزار تست) نسبت به تعویض شیلنگ‌ها اقدام کند.

تست و کالیبراسیون قسمت‌های حرارتی

به‌منظور به دما رسیدن (دمای 37 درجه) معرف و سمپل قبل از واکنش در دستگاه آنالیزور بیوشیمی از یک انکوباتور از جنس Hot Plate و ... استفاده می‌شود با توجه به اینکه معرف‌ها در ظروف پلاستیکی نگهداری می‌شوند باید دمای انکوباتور 5 درجه بالاتر از حد موردنظر باشد، بنابراین معمولاً دمای انکوباتور روی 42 درجه سانتی‌گراد تنظیم است که برای کنترل آن باید از دماسنج با دقت 0/1 درجه سانتی‌گراد استفاده نمود.

تست و کالیبراسیون سرنگ‌های نمونه‌برداری

سرنگ‌های نمونه‌برداری در اتوآنالیزور بیوشیمی که به دلیل معروفیت کمپانی سازنده به نام سرنگ هامیلتون نامیده می‌شود، وظیفه برداشتن و تخلیه نمونه و معرف را بر عهده دارند. برای کنترل این سرنگ‌ها به دستگاه دستور داده می‌شود تا حجم خاصی از سمپل (مثلاً 5µl) یا معرف (500µl) را در کاپ بریزد سپس این حجم را با سمپلر دقیق و کالیبره چک می‌کنند.

تست و کالیبراسیون توان ورودی دستگاه:

به‌طور متوسط سالی یک‌بار باید برق ورودی به قسمت‌های مختلف دستگاه با مالتی‌متر دقیق و کالیبره کنترل شود.

تست و کالیبراسیون ولتاژ لامپ و قسمت‌های دتکتور:

بسیار مهم است که هر 6 ماه یک‌بار ولتاژ لامپ با یک ولت‌متر حساس با دقت 0/01 ولت تنظیم گردد و همچنین بهره خروجی دتکتور مطابق روش زیر تست و تنظیم گردد. ابتدا یک کاپ شفاف و تمیز، حاوی آب مقطر را در مقابل منبع نوری می‌گذاریم، باید جذب نوری با دقت سه رقم اعشار در محدوده 0/001 باشد، در غیر این صورت میزان جذب نوری بلانک، توسط پتانسیومترهای مربوطه تنظیم می‌گردد.

مراجع:

1-تکنیک‌های عملی آزمایشگاه تشخیصی جلد ششم: کنترل کیفی مواد و تجهیزات آزمایشگاهی PAS

2-ماهنامه مهندس پزشکی ش 44 سال چهارم آذر 83 صفحه 60

3- کتاب بیوشیمی تیتز 1996

4- کنترل کیفیت در آزمایشگاه‌های پزشکی دکتر فریده رضی، آزمایشگاه مرجع سلامت

5-کتاب بیوشیمی هنری دیویدسون2007, 2011

6-استاندارد آزمایشگاه‌های بالینی امریکا ,clsi, 2006

7-کتاب جامع تجهیزات آزمایشگاه، حمیدرضا سقا

8-تضمین کیفیت در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و کنترل کیفی آزمایش‌ها و تجهیزات (سیما ذوالفقاری انارکی، نشر طبیب)