

## دستورالعمل سمپلر

دستورالعمل تعیین چگونگی کاربری، نگهداری و ایمنی، کنترل کیفی و کالیبراسیون سمپلر



### ۱- هدف:

تعیین چگونگی کاربری، نگهداری و ایمنی، کنترل کیفی و کالیبراسیون سمپلر

### ۲- دامنه کاربرد:

تمامی بخش های آزمایشگاه

### ۳- تعاریف و اصطلاحات:

منظور از نگهداری، فعالیت های مربوط به تنظیم ، سرویس و حفظ شرایط کاری می باشد.

### ۴- مسئولیت و اجرا:

کارکنان فنی

### ۵- مدارک مرتبط:

روش اجرائی کنترل تجهیزات و لوازم ، روش اجرائی کالیبراسیون ، فرم نگهداری و تعمیر تجهیزات، فرم کنترل ،

روش اجرائی اقدام اصلاحی

### ۶- شرح اقدامات:

#### ۶-۱- کلیات:

انجام و پی گیری موارد مشروحه زیر نظر مسئول واحد صورت می پذیرد. نظارت و چگونگی اجرا توسط مدیر فنی

انجام می شود.

#### ۶-۲- چگونگی کاربری:

در ابتدای هر روز کاری قبل از شروع به استفاده از سمپلر مورد نظر، شاسی آن را حد اقل ۲۰ بار بالا و پایین کنید. این کار به روغن کاری اجزای وسیله کمک کرده، موجب افزایش عمر مفید آن خواهد شد. آنگاه برای برداشتن حجم مورد نیاز به ترتیب زیر عمل نمایید:

### الف) سمپلر های <math>\mu\text{l } 10</math>

به منظور حصول بیشترین دقت و صحت از سمپلر مورد استفاده، هر بار که سر سمپلر را عوض می کنید باید عمل pre-wetting را انجام دهید. بدین معنا که ۲-۳ بار نمونه یا مایع مورد نظر را درون سر سمپلر پر و خالی کنید.

### انجام این عمل برای تمامی سمپلر های بالاتر از <math>\mu\text{l } 10</math> الزامی است.

- ۱- سر سمپلر مناسبی را **محکم** به وسیله متصل نمایید.
- ۲- عمل pre-wetting را انجام دهید.
- ۳- شاسی سمپلر را تا مرحله ۱ به سمت پایین فشار دهید.
- ۴- در همین حال، و بدون رها کردن شاسی سمپلر را به صورت عمودی تا حدود 3 mm داخل نمونه، مایع یا محلول مورد نظر فرو ببرید.
- ۵- شاسی را آرام رها کنید تا مایع بداخل سر سمپلر وارد شود. در این مرحله نباید حبابی داخل سر سمپلر مشاهده شود. در غیر این صورت باید مجدداً عمل کشیدن مایع را تکرار کنید. بیرون سر سمپلر را با گاز پاک کنید.
- ۶- جهت تخلیه حجم موجود در سر سمپلر، ابتدا سر سمپلر را به دیواره داخلی لوله آزمایش مورد نظر بچسبانید.
- ۷- شاسی را به آرامی تا مرحله ۱ به پایین فشار دهید. ۱-۳ ثانیه صبر کرده، آنگاه شاسی را تا مرحله ۲ فشار دهید تا مایع کاملاً خالی شود.
- ۸- در همین حال که شاسی تا آخرین مرحله به پایین فشرده شده، سمپلر را طوری بیرون آورید که سر سمپلر هنگام بالا آمدن به دیواره لوله مالیده شود.
- ۹- شاسی را رها کنید.
- ۱۰- سر سمپلر را دور بیندازید و در صورت عدم نیاز به استفاده مجدد از سمپلر، آن را در پایه مناسب قرار دهید.

**توجه: ۱- هیچگاه در حالتی که داخل سر سمپلر مایعی کشیده شده، سمپلر را روی میز**

**کار نگذارید!**

۲- در صورت کار با محلولها یا مایعاتی که ویسکوزیته بالایی دارند، در مراحل مکش و تخلیه بیشتر تامل نمایید.

### ب) سمپلر های ۱۰ μl یا کمتر

حجمی که با این گونه سمپلر ها برداشته می شود تنها در صورتی از دقت و صحت مورد نیاز برخوردار است که نمونه در داخل محلول دیگری شسته (rinse) شود. در مورد این سمپلر ها نباید عمل pre-wetting اعمال شود.

۱- پس از اتصال سر سمپلر ، عمل اسپیراسیون نمونه را مانند روش فوق ( مراحل ۵-۳ ) انجام دهید.

۲- سر سمپلر حاوی نمونه را داخل محلولی که قرار است نمونه بدان اضافه شود فرو ببرید.

۳- چندین بار سر سمپلر را درون محلول پر و خالی کنید (= عمل شستشو) (در مواقع خالی کردن، شاسی را تا مرحله ۲ به پایین فشار دهید.)

۴- در آخر عمل تخلیه را با فشردن شاسی تا مرحله ۲ انجام دهید. در همین حال به آرامی سمپلر را بیرون آورید طوری که سر سمپلر هنگام بالا آمدن با سطح داخلی لوله تماس پیدا کند.

۵- شاسی را رها کنید.

۶- سر سمپلر را دور بیندازید و در صورت عدم نیاز به استفاده مجدد از سمپلر ، آن را در پایه مناسب قرار دهید.

### توجه:

۱- هر گونه اختلاف دمایی ما بین سر سمپلر و نمونه یا مایع مورد نظر می تواند موجب

خطای حجمی گردد.

۲- در صورت کار با مایعات فرار نیز ممکن است خطای حجمی پیش آید.

### ۳-۶ نکات:

۱- اطمینان از اتصال محکم سر سمپلر

۲- عمود نگهداشتن سمپلر در زمان مکش

۳- تخلیه محلول با تماس نوک سمپلر و جداره ظرف تحت زاویه ۴۰-۱۰ درجه

۴- رها کردن آرام دکمه در زمان برداشت و تخلیه

۵- کشیدن نوک سمپلر به لبه ظرف برای حذف قطرات اضافی

۶- ۳-۱ ثانیه تامل پس از فشار تا توقف اول در زمان تخلیه محلول (ضمن تماس با جداره)

#### ۴-۶- نحوه نگهداری سمپلر

**نگهداری دوره ای :** شامل شستشو و کنترل کیفی سمپلر می باشد، شستشو سالی دوبار و قبل از انجام مراحل کنترل کیفی انجام می شود و به شکل تمیز کردن قسمت های داخلی است که براساس روش موجود در راهنمای سمپلر انجام می گیرد.

برای تمیز کردن قسمت های داخلی باید به راهنمای سمپلر مراجعه شود.

**توجه:** پیستون پس از شستشو باید با مقدار کمی از روغن همراه سمپلر روغن کاری شود.

در صورت لزوم کلیه قسمت های خارجی را می توان با محلول آب و صابون تمیز کرد و پس از آبکشی در دمای اتاق خشک کرد.

برای ضد عفونی کردن سمپلر محلول ۶۰ درصد ایزوپروپانول توصیه می شود.

#### ۵-۶- کنترل کیفی سمپلر:

بررسی دقت و صحت سالی ۴ بار (هر ۳ ماه) به روش رنگ سنجی (سمپلر های کمتر از ۱ میکرولیتر) و یا وزن سنجی (سمپلر های بالاتر از ۱ میکرولیتر) امکان پذیر است.

#### ۱-۵-۶- کنترل دقت ((Precision:

- در کارهای روتین سمپلرها به دو گروه ۱۰۰-۱۰۰۰ میکرولیتر و ۱۰۰۰-۱۰۰ میکرولیتر تقسیم می شوند.

- برای گروه اول از روش رنگ سنجی (( Spectrophotometric or Colorimetric Method یا وزن سنجی استفاده می شود.

- **روش رنگ سنجی:** به این منظور یک محلول ذخیره با غلظت 155 mg/dl (از پودر رنگ سبز خوراکی) و یا رنگ سبز خوراکی ابیض شیمی تهیه می کنیم. جهت چک سمپلرها یک رقت ۱ به ۱۰۱ از این رنگ برای هر سمپلر تهیه می شود.

به طور مثال برای سمپلر ۱۰ میلی لیتر آب مقطر با پی پت کلاس A به ده لوله اضافه می گردد. سپس از رنگ تهیه شده ۱۰ میکرولیتر با سمپلر به هر لوله اضافه می گردد. و برای سمپلر ۵۰، پنج میلی لیتر آب مقطر با پی پت کلاس A به ده لوله اضافه می گردد. سپس از رنگ تهیه شده ۵۰ میکرولیتر با سمپلر به هر لوله اضافه می گردد. پس از مخلوط کردن، جذب نوری هر لوله را در طول موج ۶۳۰ نانومتر در مقابل آب مقطر می خوانیم. اختلاف در جذب نوری لوله ها به اختلاف در حجم رنگی انتقالی توسط سمپلر نسبت داده می شود و با محاسبه ضریب انحراف معیار ((CV میزان عدم تکرار پذیری محاسبه می شود.

- در گروه اول یا دوم به روش وزنی (Weighting or Gravimetric Method) کنترل دقت صورت می گیرد.

- سمپلر کمتر یا مساوی ۱۰ میکرولیتر یک بشر را روی ترازو قرار داده و ترازو را صفر کنید. درون آن مقداری آب بریزید و وزن آب را یادداشت کنید. سپس حد اقل ۲۰ بار از آب ظرف بردارید و هر بار کاهش وزن را یادداشت کنید.

- سمپلر بیشتر از ۱۰ میکرولیتر: در این روش ظرفی را بر روی ترازو قرار داده و ترازو را صفر می‌نمائیم. سپس دمای آب مقطر را مشخص نموده و با استفاده از سمپلر مورد آزمایش آب را درون ظرف ترازو ریخته و وزن آن را مشخص می‌نمائیم. این عمل را تا ۲۰ بار انجام می‌دهیم.

سپس میانگین وزن ها ، انحراف معیار و ضریب تغییرات را محاسبه می‌نمائیم. چنانچه میزان ضریب تغییرات بیش از ۲٪ باشد، این سمپلر از دقت کافی برخوردار نبوده و قابل استفاده نمی‌باشد.

### کنترل صحت (Accuracy):

جهت کنترل صحت عملکرد سمپلر می‌توان از دو روش فوق استفاده نمود.

- در روش رنگ سنجی دقیقاً با رقتی که نمونه رنگ را در داخل لوله‌ها رقیق نموده ایم ( ۱ به ۱۰۱) رنگ را با استفاده از پی پت و بالن ژوژه کلاس A رقیق می‌کنیم و در طول موج ۶۳۰ نانومتر با بلانک آب مقطر قرائت انجام می‌گیرد. حال مقدار جذب نوری بدست آمده را بعنوان مقدار رفرانس تلقی نموده و جذب نوری بدست آمده از سمپلر را از این مقدار کم نموده و نتیجه حاصل را بر جذب نوری رفرانس تقسیم می‌کنیم ، مقدار اختلاف نشاندهنده عدم صحت

سمپلر می‌باشد. با ضرب نمودن این اختلاف در عدد ۱۰۰، درصد سوگرایی ((Bias بدست می‌آید.

$$\text{Bias} = (\text{Expected Value} - \text{Observed Value}) / \text{Expected Value} \times 100$$

- در روش وزن سنجی نیز میانگین وزن های بدست آمده را در فاکتور تصحیحی (( Correction Factor که برای تبدیل وزن به حجم بر اساس دمای آب مقطر و فشار هوای محل بدست می‌آید ضرب می‌نمائیم. سپس اختلاف حجم بدست آمده با حجم اعلام شده برای سمپلر، را بدست آورده و آنرا بر حجم اعلام شده تقسیم می‌کنیم. این مقدار، مقدار واقعی انحراف خواهد بود و حد آن نباید از ۳ درصد بیشتر باشد.

**توجه:** نکاتی که باید در ارتباط با روش وزن سنجی رعایت نمود عبارتند از:

- دمای اتاق در حین آزمایش باید بین 20-25 C° با اختلاف 5/0 C° و رطوبت در حد ۹۰-۶۰ درصد باشد.

- نورآفتاب نباید مستقیماً بر روی سمپلر و یا آب بتابد و دمای آب و محل باید با نوک سمپلر یکسان باشد.

- ترازو در محلی عاری از لرزش و کنترل شده از نظر دما باشد.

- آب مورد استفاده باید فاقد گاز، دوبارتقطیریا دیونیزه و هم دمای اتاق باشد.

## ۶-۵-۲- کنترل کیفی سمپلرهای متغیر:

در سمپلرهای متغیر معمولاً در سه حجم سمپلر شامل: ۵۰٪ حجم نهایی، کمتر از ۱۰٪ حجم نهایی و حجم نهایی یا اصلی سمپلر، بررسی صورت می پذیرد. مثلاً برای چک سمپلر ۱۰-۱۰۰: حجم های ۱۰۰، ۵۰ و ۸ میکرولیتر ارزیابی می شوند.

## ۷- کالیبراسیون:

در صورت مشاهده خطای صحت، سمپلر جهت کالیبراسیون به توجه به کاتالوگ تنظیم می شود.

## ۸- ایمنی:

۸-۱- ضربه به سمپلر می تواند این وسیله را از کالیبراسیون خارج نماید.

۸-۲- نباید مایع وارد قسمت های داخلی سمپلر گردد، همیشه از نوک سمپلر مناسب با حجم برداشتی استفاده شود.

۸-۳- تماس دست با نوک سمپلر آلوده ممنوع می باشد.

۸-۴- در صورت مکش محلولهای اسیدی و سایر محلولهای خورنده باید بخش نگهدارنده سر سمپلر ( Tip Holder)

باز شده و پیستون و حلقه پلاستیکی (O-ring) بخوبی با آب شسته شود.

۸-۵- هرگز نباید سمپلر حاوی محلول به پهلو به زمین گذاشته شود

۸-۶- هرگز نباید سمپلرهای متغیر با حجمی خارج از محدوده حجمی ادعایی آنها استفاده شود.

## ۹- سوابق:

نتایج کنترل کیفی در فرم فهرست سمپلرها و دیسپنسرها ثبت شده و جزئیات نتایج آن در فرم ثبت نتایج کنترل کیفی سمپلرها ثبت و نگهداری می شود.

## ۱۰- تعمیرات:

در صورت نیاز دستگاه به تعمیر با نظر مسئول فنی، از سرویس کاری خارج و جهت تعمیر آن به شرکت پشتیبان اطلاع داده می شود. نتایج عملیات نیز در فرم تعمیر سوابق تجهیزات ثبت و نگهداری می گردد.

فرمولهای مورد نیاز:

$$\sum (x - \text{mean})^2$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x - \text{mean})^2}{n - 1}}$$

$$CV = \frac{SD}{\text{mean}} \times 100$$

$$\% \text{ Bias} = \frac{\text{Expected Value} - \text{Observed Value}}{\text{Expected Value}} \times 100$$

Expected Value