

دانشگاه علوم پزشکی ایران
شبکه بهداشت و درمان بهارستان
دستورالعمل سانتریفیوژ

سانتریفیوژ

تعریف عمومی سانتریفیوژ: سانتریفیوژ دستگاهی است که با استفاده از نیروی گریز از مرکز اجزا یک محلول که دارای دانسیته های متفاوت است از هم جدا می کند

انواع سانتریفیوژ:

- ✓ ۱- طبقه بندی کلی (سانتریفیوژ مقدماتی / سانتریفیوژ تحلیلی)
- ✓ ۲- تعریف عمومی سانتریفیوژ: سانتریفیوژ دستگاهی است که با استفاده از نیروی گریز از مرکز اجزا یک محلول که دارای دانسیته های متفاوت است از هم جدا می کند
- ✓ ۱- طبقه بندی کلی (سانتریفیوژ مقدماتی / سانتریفیوژ تحلیلی)
- ✓ انواع سانتریفیوژ:
- ✓ طبقه بندی بر اساس سرعت چرخش (سانتریفیوژ با دور پائین / سانتریفیوژ با دور بالا / اولتراسانتریفیوژ)
- ✓ ۳- طبقه بندی سانتریفیوژ بر اساس ساختار فیزیکی (سانتریفیوژ شناور / سانتریفیوژ با زاویه ثابت)
- ✓ ۴- طبقه بندی کاربردی سانتریفیوژ (سیتو سانتریفیوژ / سانتریفیوژ هماتوکریت / میکرو سانتریفیوژ / سروفیوژ / سانتریفیوژ معمول)

دانشگاه علوم پزشکی ایران
شبکه بهداشت و درمان بهارستان
دستورالعمل سانتریفیوژ

سانتریفوژ مقدماتی

✓ با هدف جداسازی جامدات معلق از مایعات در نمونه بیولوژیک کاربرد دارد

سانتریفوژ تحلیلی

✓ با هدف تعیین کمیت یک جز جامد معلق در مایع به کار می رود مثل سانتریفوژ میکرو هماتوکریت

طبقه بندی سانتریفوژ بر اساس سرعت چرخش

سانتریفوژ با دور پائین

✓ شامل سانتریفوژ با دور ۶۰۰۰-۲۰۰۰ rpm و حداکثر ۸۰۰۰ rpm می باشد. کاربرد آن بیشتر جهت جداسازی سلول هلی خونی و ذرات درشت و حجیم می باشد و جهت ذرات ریز کاربرد ندارد

سانتریفوژ با دور بالا

✓ دور rpm ۲۱۰۰۰-۲۴۰۰۰ با حداکثر rpm ۳۰۰۰۰. همگی یخچال دار بوده و عمدتاً جهت جداسازی ذرات ریز نظیر پروتئین ویروس و باکتریوفاژ و مخمر و میکرو ارگانیسم ها کاربرد دارد

اولترا سانتریفوژ

✓ دور rpm with max ۱۲۰۰۰۰-۷۵۰۰۰. همگی یخچال دار می باشد و کاربرد جهت جداسازی مواد تشکیل دهنده سلولی (ریبوزوم / پلی زوم / ماکرو ملکول ها) و پروتئین های سلولی می باشد

دانشگاه علوم پزشکی ایران
شبکه بهداشت و درمان بهارستان
دستورالعمل سانتریفیوژ

طبقه بندی سانتریفوژ بر اساس ساختار فیزیکی

- ✓ سانتریفوژ شناور SWING bucket
- ✓ باگت ها شناور بوده و پس از حرکت دورانی از حالت عمودی به افقی قرار می گیرد . در این نوع سانتریفوژ مواد معلق از مرکز به انتهای لوله ها رانده می شوند و رسوب به حالت یک لایه یکنواخت است

سانتریفوژ با زاویه ثابت FIXED Angle

- ✓ باگت زاویه دار و ثابت می باشد (۲۵-۴۵ درجه) و رسوب در جدار و بخشی از کف لوله تشکیل می گردد و هرچه این زاویه نسبت به محور کمتر باشد میزان رسوب در جدار بیشتر است . نوع زاویه ثابت در مواردی که نیاز به رسوب دادن ذرات ریزتر داریم کاربرد دارد .

سانتریفوژ محوری Axial

- ✓ لوله حاوی نمونه در طول محور عمودی خود دوران می نماید . کاربرد بالینی آن تخصصی است و معمولا از تیوب های سپتوم دار و کیوم استفاده می شود و یک سوزن از طریق درب لوله یا سپتوم وارد لوله شده و نمونه شفاف را برداشت می نماید مثل سایتو سانتریفوژ ها

طبقه بندی کاربردی سانتریفوژ

- اسیتو سانتریفوژ

- ✓ لوله و اسلاید عمودی در کنار هم قرار می گیرند در حین دوران سلول تغلیظ شده در یک لایه روی سطح اسلاید قرار می گیرد / دور در دقیقه ۲۰۰-۴۰۰ و زمان بین ۱-۹۹ دقیقه متغیر است. معمولا دور پایین را برای سلول های شکننده به کار می برند.

دانشگاه علوم پزشکی ایران
شبکه بهداشت و درمان بهارستان
دستورالعمل سانتریفیوژ

- ✓ ۲- سانتریفوژ هماتوکریت
- ✓ RCF استاندارد میکرو هماتوکریت ۱۰۰۰۰ g و زمان استاندارد ۵-۳ دقیقه (کمترین احتباس پلاسما)
- ✓ ۳- میکرو سانتریفوژ
- ✓ جهت نمونه هایی با حجم کمتر از ۱.۵ سی سی مثل نمونه های اطفال کاربرد دارد و عمدتاً جنس لوله های آن پلاستیک یک بار مصرف می باشد
- ✓ ۴- سروفیوژ
- ✓ جهت شستشو سلول و دکانت کردن و مخلوط کردن و شستشوی مجدد در بانک خون کاربرد دارد
- ✓ ۵- سانتریفوژ معمول

دانشگاه علوم پزشکی ایران
شبکه بهداشت و درمان بهارستان
دستورالعمل سانتریفیوژ

✓ فرمول تبدیل واحد دور در دقیقه (rpm) به واحد قدرت (RCF)

$$RCF = 1.118 \times 10^{-5} \times r \times (rpm)^2$$

✓ ۲ شعاع سانتریفوژ بر حسب سانتی متر

✓ توصیه می شود از محور چرخش تا وسط لوله را به عنوان شعاع در نظر گرفته شود.

✓ Rpm دور در دقیقه

✓ RCF=Relative Centrifugal Force

✓ نکته: هرچه شعاع چرخش بیشتر باشد سرعت رسوب ذرات بیشتر است و زمان مورد نیاز برای رسوب ذرات کمتر است. زمانی که RCF تولید دستگاه حتی با حداکثر دور هم کافی نیست در این موارد با اضافه کردن زمان جبران می نمائیم

دانشگاه علوم پزشکی ایران
شبکه بهداشت و درمان بهارستان
دستورالعمل سانتریفیوژ

✓ فرمول تصحیح زمان و قدرت سانتریفیوژ

$$\text{Time(need)} = \text{Time(suggested)} \times \text{RCF(suggested)} / \text{RCF(need)} \quad \checkmark$$

✓ مثال: اگر زمان پیشنهادی برای قدرت ۳۰۰۰ حدود ۳۰ دقیقه باشد و حداکثر قدرت سانتریفیوژ ۲۸۰۰ باشد زمان مورد نیاز و اصلاح شده طبق فرمول ۳۲ دقیقه و ۱۴ ثانیه خواهد بود.

✓ بهتر است انتخاب یک سانتریفیوژ بر اساس قدرت یا RCF باشد تا معیار دور در دقیقه

✓ اجزا یک دستگاه سانتریفیوژ

✓ موتور الکتریکی

✓ شافت

✓ سر روتور و باگت ها (جنس روتور آلومینیوم / استیل / تیتانیوم)

✓ کلید پاور دستگاه / دور / زمان / ترمز

دانشگاه علوم پزشکی ایران
شبکه بهداشت و درمان بهارستان
دستورالعمل سانتریفیوژ

✓ نکات کیفی کار با سانتریفیوژ

- ✓ محل قرار گیری سانتریفیوژ صاف و کاملاً افقی باشد/ در غیر این حالت احتمال حرکت سانتریفیوژ در حین کار وجود دارد
- ✓ ۲- رعایت بالانس و توازن لوله ها جهت کاهش احتمال شکستگی و نشت مایع از لوله ها و افزایش طول عمر ذغال سانتریفیوژ
- ✓ ۳- چرخش آهسته و تدریجی پیچ تنظیم دور
- ✓ ۴- تمیز کردن روزانه داخل باگت ها و فضای داخل روتور با گلو تار آلدئید ۱٪ یا هیپوکلریت ۱۰٪
- ✓ ۵- کنترل دو ماه یک بار برس ها و ذغال سانتریفیوژ و در صورت نیاز تعویض آن
- ✓ ۶- خاموش کردن فوری سانتریفیوژ پس از شکستن لوله و باز کردن پنجره مجاور آن و ترک اطاق حداقل به مدت ۱۵ دقیقه (جهت رسوب آئروسول های آلوده شناور محیط) و نهایتاً تمیز کرده داخل باگت و روتور با ضد عفونی کننده و دستکش و ماسک
- ✓ ۷- عدم باز کردن درب سانتریفیوژ روشن
- ✓ ۸- عدم مجاورت دستگاه های آنالایزر شیمی و سل کانتر با سانتریفیوژ به دلیل منبع مغناطیسی قوی و خطا های احتمالی که ایجاد می نماید .
- ✓ ۹- در صورت الزام به تعویض روتور الزاماً هم مدل دستگاه باشد

دانشگاه علوم پزشکی ایران
شبکه بهداشت و درمان بهارستان
دستورالعمل سانتریفیوژ

✓ ۱۰- با شنیدن صدای ناهنجار بلافاصله سانتریفیوژ خاموش گردد

✓ ۱۱- از لوله های شکسته و ترک دار استفاده نشود

✓ کنترل کیفی سانتریفیوژ

✓ چهار محور ذیل در سانتریفیوژ بایستی به طور مرتب کنترل کیفی گردد .

✓ ۱- دور در دقیقه (rpm) : سه ماه یک بار با تاکومتر / اختلاف مجاز بین عدد دور در دقیقه تاکومتر و عدد دور سانتریفیوژ کمتر از ۱۰٪ (بایاس مجاز)

✓ ۲- کنترل تایمر و زمان هفتگی با کرومومتر استاندارد / اختلاف مجاز کمتر از ۱۰٪ (بایاس مجاز)

✓ ۳- کنترل دما در سانتریفیوژ ماهانه با دماسنج استاندارد / اختلاف مجاز کمتر از ۵ درجه / اختلاف مجاز در سانتریفیوژ یخچال دار ۲ درجه

✓ ۴- کنترل و بازدید ذغال سانتریفیوژ دو ماه یک بار / در صورتی که ذغال مشکلی نداشته باشد بهتر است هر شش ماه یک بار تعویض گردد

✓ کنترل کیفی دور سانتریفیوژ با تاکومتر

✓ سانتریفیوژ هر سه ماه یک بار بایستی با تاکومتر به لحاظ صحت دور در دقیقه کنترل گردد . سانتریفیوژ بایستی در ماکزیمم دور خود کالیبره شود و شرایط کالیبراسیون از لحاظ تعداد لوله های خالی بایستی یکسان باشد .

✓ تاکومتر مکانیکی (روش قدیمی): میله تاکومتر بر روی شفت سانتریفیوژ قرار داده و دستگاه روشن می شود با چرخش شفت میله تاکومتر هم می چرخد و دور را روی صفحه خویش نمایش می دهد

دانشگاه علوم پزشکی ایران
شبکه بهداشت و درمان بهارستان

دستورالعمل سانتریفیوژ

✓ تاکومتر نوری (روش جدید و استاندارد): ابتدا کاغذ اندیکاتور نوری را روی محور سانتریفیوژ می چسبانیم سپس سانتریفیوژ با دور معین روشن نموده و تاکومتر را در فاصله ۵۰-۱۵۰ میلیمتری محور سانتریفیوژ (بالای اندیکاتور) قرار داده و سپس دکمه تاکومتر را فشار می دهیم پس از اینکه تاکومتر به مدت ۲ ثانیه عدد ثابتی را نشان داد عدد مذکور دور دقیق می باشد که بایستی ثبت گردد و پس از مقایسه با دور نشان داده شده روی سانتریفیوژ بایاس (عدم صحت) استخراج گردد. (کاغذ می تواند به مدت طولانی در محل باشد و مکررا استفاده گردد)

جدول کنترل کیفی دور سانتریفیوژ (سه ماه یک بار)

نام کنترل کننده	غیر قابل قبول	قبول	بایاس مجاز یا مورد انتظار	بایاس اندازه گیری شده	دور تاکومتر	دور سانتریفیوژ	تاریخ
			٪۱۰				
			٪۱۰				
			٪۱۰				

دانشگاه علوم پزشکی ایران
شبکه بهداشت و درمان بهارستان
دستورالعمل سانتریفیوژ

کنترل کیفی تایمر سانتریفیوژ

- ✓ تایمر سانتریفیوژ هفته ای یک بار در مقابل یک کروномتر بایستی چک شود و اختلاف به صورت بایاس سنجیده شود
- ✓ ۱- بین حداقل و حداکثر زمان سانتریفیوژ پنج زمان را با فواصل مساوی انتخاب نموده و زمان ها را یادداشت نموده
- ✓ ۲- زمان سنج را با هر یک از زمان های ثبت شده تنظیم نموده و هربار یا شروع به کار تایمر دستگاه دکمه کروномتر را فشار داده و درست زمانی که مدت زمان سنج به اتمام رسید کروномتر را خاموش نمائیم (نه هنگامی که حرکت دورانی سانتریفیوژ به پایان می رسد)
- ✓ اعداد بدست آمده با کروномتر را که اعداد اندازه گیری شده می باشد با اعداد قابل انتظار در یک ستون قرار می دهیم و با میانگین بدست آمده از هر ستون بایاس را محاسبه می نمائیم.
- ✓ $EV - MV \times 100 / EV = BIAS\%$

دانشگاه علوم پزشکی ایران
شبکه بهداشت و درمان بهارستان
دستورالعمل سانتریفیوژ

✓ جدول اولیه ثبت زمان تایمر سانتریفیوژ

کرونومتر	تایمر
۱.۹۸	۲
۳.۸۳	۴
۵.۹۴	۶
۷.۹	۸
۹.۸۷	۱۰
میانگین تایم اندازه گیری شده	میانگین تایم قابل انتظار

دانشگاه علوم پزشکی ایران
شبکه بهداشت و درمان بهارستان
دستورالعمل سانتریفوژ
جدول کنترل کیفی تایمر سانتریفوژ (هفتگی)

نام کنترل کننده	غیر قابل قبول	قبول	بایاس مجاز یا مورد انتظار	بایاس اندازه گیری شده	کرونومتر	تایمر سانتریفوژ	تاریخ
			۰.۵٪				
			۰.۵٪				
			۰.۵٪				

✓ کنترل کیفی دمای سانتریفوژ

✓ کلیه سانتریفوژها در حین چرخش تولید حرارت می نمایند و گاهی در حین جداسازی سرم دما تا ۵ درجه افزایش می یابد. تغییر دما به دور وزمان و طرح روتور بستگی دارد که نهایتا به تبخیر نمونه و افزایش غلظت و کاهای تخریب نمونه منجر می گردد.

دانشگاه علوم پزشکی ایران
شبکه بهداشت و درمان بهارستان
دستورالعمل سانتریفوژ

✓ بهترین مکان کنترل دمای داخل سانتریفوژ قرار دادن یک ترمومتر کوچک استاندارد داخل یک لوله حاوی آب مقطر می باشد و خواندن دما بایست بلافاصله پس از پایان سانتریفوژ صورت گیرد .

✓ بالا رفتن دما بیش از ۵ درجه در سانتریفوژها معمولی و بیش از ۲ درجه در سانتریفوژهای یخچال دار مهم و قابل پیگیری می باشد

جدول کنترل کیفی دما سانتریفوژ (ماهیانه)

نام کنترل کننده	غیر قابل قبول	قبول	اختلاف دما مورد انتظار	اختلاف دما اندازه گیری شده	دما آب بعد از سانترفوژ	دما آب قبل از سانترفوژ	تاریخ
			+۵				
			+۵				
			+۵				