

دستگاه های شستشوگر الایزا(2)(Elisa Washers)

روش شستشو

در مورد روش شستشو و تعداد دفعات تکرار آن روش، ذیصلاح ترین منبع کمپانی سازنده می باشد، کاهش دفعات شستشو سبب باقی ماندن کمی از اتصالات غیر ویژه خواهد شد و افزایش دفعات شستشو می تواند به اتصالات ویژه هم آسیب برساند لذا همواره تعداد دفعات شستشو را طبق توصیه کمپانی سازنده باید انجام داد. نکته ای که بسیار حائز اهمیت است، شیوه آماده سازی برخی محلول های شستشو است. به منظور کاهش وزن و حجم کیتها، اغلب محلول های شستشو به صورت غلیظ تهیه می شوند و باید در زمان استفاده رقیق شوند لذا چنانچه میزان رقیق سازی رعایت نشود می تواند موجب آسیب به این مرحله گردد.

در روش شستشو رعایت اصول کلی ذیل می تواند مفید باشد اما اگر در کیت خاصی، نکته ای خاص باید رعایت شود، کمپانی سازنده موظف به ذکر آن در بروشور بوده و مجری تست نیز باید آنرا رعایت کند. مراحل کلی شستشو به صورت ذیل می باشند:

۱. حداقل یک ربع قبل از استفاده، محلول شستشو را به دمای محیط برسانید.
۲. قبل از استفاده به آرامی محلول را چند بار سر و ته کنید تا کاملاً یکنواخت شود.
۳. فقط به اندازه حجم مورد نیاز به میزانی که لازم است محلول شستشو را رقیق کنید.
۴. حدود ۳۰۰ میکرولیتر از محلول شستشو به هر چاهک اضافه کنید. مراقب باشید که زمان افزودن محلول شستشو آسیب فیزیکی به دیواره و کف چاهکها که حاوی آنتی بادی هستند وارد نشود.
۵. حدود ده ثانیه پس از افزودن محلول شستشو به چاهک ها صبر کنید و ترجیحاً با انگشت ضربات ملایمی به جداره میکروپلیت وارد سازید. این امر به جدا شدن اتصالات غیر ویژه کمک می کند.
۶. به سرعت محتوی چاهک ها را به داخل ظرفشویی پرتاب و تخلیه کنید. مراقب باشید که محلول شستشوی یک چاهک، چاهکهای دیگر را آلوده نکند.
۷. پس از این که این مرحله را به دفعاتی که سازنده کیت توصیه کرده، انجام دادید، با ضربات ملایم برای کاغذ جاذب، آخرین قطعات محلول شستشو را از چاهکها خارج کنید. (به این عمل Tapping می گویند.)

ابزارهای شستشو

با توجه به اهمیت مرحله شستشو، ابزارهای مختلفی برای این منظور طراحی شده و در دسترس میباشند اما به طور کلی این ابزارها در سه گروه کلی دسته بندی می شوند:

۱. روش های دستی ۲. روش های نیمه خودکار ۳، روش های تمام خودکار

در روش دستی پس از آمادهسازی محلول شستشو، از انواع سمپلرها و یا دیس پنسرهای دستی می توان برای شستشو استفاده کرد. معمولاً زمانی که تعداد آزمونها محدود باشد از روش دستی به خوبی می توان بهره گرفت. مثلاً به کمک یک سمپلر متغیر با حجم 300 – 230 محلول شستشو از مخزن اصلی مانند بشر به داخل چاهکها منتقل می شود. تکنیسین های ماهر آزمایشگاه از سمپلر 1000 استفاده می نمایند و حجم مذکور را به چهار چاهک می افزایند یعنی به هر چاهک حدود 250 محلول شستشو می افزایند. بدیهی است این مرحله به تجربه شخصی بستگی زیادی دارد و عدم دقت می تواند باعث توزیع ناعادلانه این محلول در چهار چاهک شود که از کیفیت شستشو می کاهد اما به دلیل کاهش دفعات برداشت محلول شستشو از مخزن، به سرعت عمل شستشو می افزاید، انواع دیس پنسرهای مخزن دار با حجم های متفاوت مخزنی در دسترس می باشند و از آنجایی که حتی می توان کل حجم محلول مورد نیاز برای یک مرحله شستشو را در مخزن ذخیره کرد و سپس به چاهک ها افزود، استفاده از این ابزار سرعت شستشو را افزایش می دهد و در ضمن از دقت کافی نیز برخوردار هستند. یکی دیگر از روش های دستی که از سرعت خوبی نیز برخوردار است استفاده از سمپلرهای چند شاخه یا Multiclannel می باشد. سمپلرهای مذکور که معمولاً 8 یا 12 شاخه هستند، محلول شستشو را به طور همزمان به 8 یا 12 چاهک اضافه می کنند و این امر به خوبی سرعت مرحله شستشو را افزایش می دهد.

در ابزارهای نیمه خودکار به کمک دو پمپ، مرحله افزایش و تخلیه را بطور خودکار انجام می دهند اما تعیین سطح نازل های محلول و مجاری مکنده به کمک دست تنظیم میشود لذا این ابزار نیمه خودکار است.

در صورتی که استفاده از این ابزار نیمه خودکار با دقت انجام شود، سرعت مرحله شستشو نسبت به ابزارهای دستی افزایش خواهد یافت و در ضمن دقت این مرحله نیز بیشتر خواهد بود. این ابزارهای نیمه خودکار دارای دو مخزن می باشند یکی از مخازن حاوی محلول شستشو می باشند و به کمک پمپ به چاهکها افزوده می شود و مخزن دوم برای جمع آوری محلول شستشوی تخلیه شده از چاهکها به کمک پمپ مکنده در نظر گرفته شده است. چنانچه کاربر از تجربه کافی برخوردار نباشد، در حین انجام شستشو می تواند به آنتی بادی های چسبیده به دیواره و کف چاهک آسیب برساند. لذا دقت و تجربه در استفاده از این ابزارها مورد نیاز میباشد. در آزمایشگاه های بزرگ و یا مراکز تحقیقاتی خصوصاً در طرح های اپیدمیولوژیک که تعداد نمونه ها زیاد است. حتی استفاده از شستشو گرهای نیمه خودکار نیز کافی نمی باشد. برای رفع نیاز این مراکز شستشو گرهای تمام خودکار

طراحی شده‌اند و در دسترس می‌باشند. از ویژگی‌های اینگونه شستشو گرها می‌توان از سرعت بالا و دقت زیاد مرحله شستشو نام برد، اغلب شستشو گرهای خودکار توانایی پذیرش یک میکروپلیت را دارند ولی حتی می‌توان یک چاهک را نیز برای شستشو برنامه ریزی کرد.

در این شستشو گرها:

۱. تعداد چاهک‌ها یا استریپ‌هایی که باید شستشو شود.

۲. حجم محلول شستشو

۳. تکان دادن بعد از افزودن محلول شستشو

۴. سرعت افزودن محلول فوق

۵. سرعت تخلیه محلول مذکور

۶. تعداد دفعات شستشو

قابل تعیین و برنامه ریزی می‌باشد. تنظیم پارامترهای فوق می‌تواند دقت و تکرارپذیری مرحله شستشو راتا حد قابل ملاحظه‌ای افزایش دهد. بطور متوسط در اغلب آزمون‌ها، سه مرحله شستشو وجود دارد و در هر مرحله 300 میکرولیتر به ازای هر چاهک و یا 30 میلی‌لیتر به ازای یک میکروپلیت محلول لازم است. به عبارتی برای شستشوی سه مرحله‌ای صد میلی‌لیتر محلول شستشوی آماده و یا ده میلی‌لیتر محلول شستشوی ده برابر غلیظ کفایت می‌کند. اما چنانچه برای شستشو از دستگاه‌های خودکار استفاده شود، به دلیل حجم مخزن دستگاه، شستشوی مسیرهای داخل دستگاه معمولاً به نیم لیتر محلول شستشوی آماده و یا پنجاه میلی‌لیتر محلول شستشوی ده برابر غلیظ نیاز می‌باشد.

در ابزارهای شستشوی دستی فقط نوک سمپلر و یا دیس پینر به محلول آغشته می‌باشد که معمولاً از نوع یک بار مصرف می‌باشد و اشکالی در بلندمدت برای ابزار مربوطه ایجاد نمی‌کند اما در روش‌های خودکار علی‌الخصوص روش‌های تمام خودکار به منظور جلوگیری از رسوب املاح موجود در محلول شستشو در نازل‌های دستگاه، حتماً پس از هر بار استفاده باید کل مسیر با میزان کافی از آب مقطر شستشو داده شود. هر بار قبل از استفاده از دستگاه، خصوصاً زمانی که بطور متوالی از کیت‌هایی با محلول‌های شستشوی متفاوت استفاده می‌شود برای متعادل شدن محیط عبور محلول، با محلول شستشو ابتدا باید کل مسیر یکبار با محلول شستشوی آماده شستشو شود. این امر مستلزم مصرف مقداری محلول شستشو علاوه بر میزان مورد نیاز برای شستشوی

پلیت می باشد. با توجه به ظریف بودن قطر نازل های محلول شستشو، احتمال رسوب و گرفتگی در آنها همواره وجود دارد. لذا اولاً قبل از ورود محلول به مجاری دستگاه یک فیلتر تعبیه شده که از ورود ذرات مزاحم جلوگیری می کند و مانع از انسداد نازلها می گردد. به علاوه هنگامی که از دستگاه استفاده نمی شود نازلها معمولاً در آب مقطر خیسانده می شوند و در ضمن توصیه می شود که مسیرها و نازل ها بطور ادواری سرویس و تمیز شوند.

از آنجایی که اغلب دستگاه های شستشو گر خودکار، دارای حافظه می باشند می توان برنامه شستشوی کیت های متفاوت را تعریف و در حافظه ثبت نمود تا در زمان استفاده از دستگاه با سرعت بیشتری مرحله شستشو را پشت سر گذاشت.

همانطور که در اصول کلی مرحله شستشو اشاره شد خیساندن کوتاه مدت چاهک ها در محلول شستشو به جداسدن اتصالات غیراختصاصی کمک می کند. این مرحله در دستگاه های خودکار تحت نام Soak کردن مطرح می شود. Soak کردن یا خیساندن (در حدود ده ثانیه) به کیفیت مرحله شستشو کمک می کند. سرعت افزودن محلول شستشو و یا سرعت تخلیه این محلول بر راندمان مرحله شستشو تیر می گذارد، اگر این سرعت بیش از حد زیاد باشد می تواند با استرس و تنش به آنتی بادی ها آسیب برساند و اگر بیش از حد کند باشد به هدف استفاده از دستگاه خودکار که همانا افزایش سرعت مرحله شستشو است، لطمه وارد می کند. لذا شدت این مراحل باید متناسب انتخاب شود.

بطور خلاصه باید گفت اغلب سنجش های ایمنی امروزه از نوع غیر یکنواخت می باشند، در این نوع سنجش ها مرحله شستشو نقش حیاتی دارد یعنی با حذف این مرحله اساسی، سنجش زیر سؤال رفته و اعتبار خود را از دست می دهد. کیفیت اجرای این مرحله نیز بر اعتبار نتایج تأثیر می گذارد. هر چند که مرحله شستشو از یک سری اصول کلی پیروی می کند اما بهتر است به توصیه شرکت سازنده کیت عمل شود. در اجرای این مرحله از ابزارهای متفاوتی استفاده می شود. کلیه این ابزارها را می توان در سه گروه کلی طبقه بندی کرد.

ابزارهای دستی - نیمه خودکار و تمام خودکار

استفاده از ابزارهای دستی و نیمه خودکار وابستگی بیشتری به پارامتر انسانی و یا تجربه مجری آزمون دارد. به خصوص در استفاده از این ابزار باید مراقب آسیب نرسیدن به آنتی بادی ها و یا آنتی ژن های داخل چاهک بود. شستشو گره های تمام خودکار حساسیت کمتری به پارامتر مذکور دارند در ضمن از سرعت بسیار بیشتری برخوردارند و به علاوه دقت این دستگاه ها بسیار قابل قبول می باشد. در هر مورد در استفاده از دستگاه ها و ابزار مذکور باید به توصیه شرکت سازنده عمل کرد و سرویس های ادواری را فراموش نکرد.

حجم محلول مورد استفاده در روش تمام خودکار بیشتر است اما در عوض دقت شستشو و نیز سرعت عمل مذکور بالاتر می باشد. با توجه به وابستگی دستگاه های تمام خودکار به برنامه ریزی مرحله شستشو، باید پارامترهایی که در دستگاه مذکور تعریف شده اند به درستی تنظیم و برنامه ریزی شوند، چنانچه از ابزارهای فوق بدرستی استفاده شود، کیفیت پاسخ های کسب شده با ابزارهای مذکور توسط یک فرد با تجربه تفاوتی ندارد و فقط سرعت مرحله شستشو از ابزارهای دستی به خودکار افزایش می یابد. در پایان صرفنظر از نوع ابزار، توصیه می گردد که به میزان رقیق سازی محلول های شستشو دقت شود، به انداز نیاز رقیق گردد ، قبل از استفاده به دمای محیط رسانده شده، از محلول ها بعد از تاریخ انقضاء استفاده نشود، فقط از محلول های شستشوی خود کیت استفاده شود، از مخلوط کردن یا جابجایی محلول هایی با سری ساخت متفاوت خودداری گردد.