

## دستورالعمل فنی پیپت

### کلیات

انجام موارد مشروحه ذیل توسط تمامی کاربران باید رعایت گردد. کنترل چگونگی اجرا و تایید نهایی توسط مدیر فنی صورت می‌پذیرد.

### چگونگی کاربردی

پیپت‌ها بر دو نوع هستند:

#### الف) پیپت‌های حجمی یا انتقالی

➤ پیپت حجمی: این نوع پیپت برای انتقال حجم مشخص از مایع، رقیق کردن محلول، ساختن استاندارد، حل کردن سرم‌های کنترل و انتقال نمونه‌های غیر چسبناک به کار گرفته می‌شود. این پیپت‌ها استوانه‌ای شکل و دارای یک حباب در وسط هستند و در قسمت پایینی لوله به یک لوله باریک ختم می‌شوند. تنگی سوراخ خروجی باعث جلوگیری از خروج سریع مایع می‌گردد. این پیپت‌ها در اندازه‌های ۱-۱۰۰ میلی لیتر وجود دارند.

➤ پیپت اسوالد-فولین: شبیه پیپت حجمی است ولی حباب آن نزدیک به انتها بوده و سطح تماس آن با مایع نیز کم است. در این نوع پیپت‌ها حلقه مشخص شده‌ای نزدیک قسمت دهانی وجود دارد که برای تخلیه کامل باید در آن فوت کرد. اندازه‌های این پیپت‌ها مختلف بوده و بیشتر برای اندازه‌گیری مایعات ویسکوز مثل خون و سرم مورد استفاده قرار می‌گیرند.

#### ب) پیپت‌های مدرج یا اندازه‌گیری:

این پیپت‌ها از یک استوانه شیشه‌ای با ضخامت یکسان درست شده‌اند و بیشتر در اندازه‌گیری محلول‌ها کاربرد داشته ولی برای انتقال حجم صحت لازم را ندارند. این پیپت‌ها بر دو نوعند:

➤ پیپت مور: این نوع بین دو علامت مدرج گردیده است که به همین دلیل برای تخلیه آن باید بر میزان مایع خروجی تا علامت تعیین شده نظارت کرد. معمولاً سوراخ آنها از نوع سرولولزیک تنگ‌تر بوده و دیرتر تخلیه می‌گردند.

➤ پیپت سرولولزیک: این نوع پیپت تا نوک آن تقسیم‌بندی شده است. در این نوع برای تخلیه کامل مایع باید در آن فوت کرد. معمولاً در نزدیک سطح دهانی این پیپت یک یا دو حلقه وجود دارد که به مفهوم فوت کردن است.

پیپت‌های حجمی برای یک حجم مشخص، کالیبره شده‌اند و به صورت (To deliver(TD) و یا به صورت (To contain (TC) به کار گرفته می‌شوند.

اغلب پیپت‌های TD با خط مشخصی در بالای استوانه علامت‌گذاری شده‌اند که وجود این خط نشان می‌دهد باید برای به دست آوردن حجم مورد نظر، آخرین قطره باقیمانده در پیپت را با دمیدن در آن تخلیه نمود.

#### نکات مهم در کاربری پیپت:

- پیپت در موقع کشیدن محلول و تخلیه آن، معمولاً عمودی نگهداشته شود.
  - در به کارگیری پیپت، باید نوع آن مدنظر قرار گیرد.
  - با توجه به حجم مورد نیاز، نوع پیپت مشخص گردد.
  - نحوه کار با پیپت با توجه به نوع آن متفاوت است که باید کاربر به این امر توجه کند.
- نحوه نگهداری:** پیپت‌ها را باید قبل از استفاده به دقت تمیز کرد زیرا هرگونه آلودگی باعث کاهش صحت و دقت آن می‌گردد.
- پیپت‌ها را پس از خاتمه کار باید در محلول رقیق دترجنت غیریونی قرار داد و پس از سه تا پنج بار آب‌کشی، با آب خالص شست‌وشو داد. می‌توان با اندازه‌گیری pH آب انتقال یافته با پیپت، از شست‌وشوی آن اطمینان حاصل کرد.
- در صورت لزوم از شست‌وشو با اسید (محلول رقیق اسید کلریدریک یا اسید نیتریک) استفاده گردد. خشک کردن آن در دمای اتاق یا کمتر از ۲۵-۳۰°C صورت پذیرد.
- هر سه ماه یکبار باید میزان عدم صحت پیپت با توجه به موارد ذیل بدست آید.

#### کنترل کیفیت

##### • کنترل صحت

- کنترل صحت پیپت به روش‌های وزنی و طیف‌سنجی (اسپکتروفتومتریک) صورت می‌گیرد که لازم است حداقل هر سه ماه یکبار این امر انجام گیرد.
- ۱- روش وزنی: این روش برای پیپت‌های TD و با حجم بیش از ۰/۵ml توصیه می‌گردد و معمولاً با آب خالص انجام می‌گیرد و با توجه به مراحل ذیل نسبت به آن اقدام می‌گردد:
- در ابتدا آب خالص به مقدار کافی، ترازوی با دقت ۰/۰۱mg ±، ویال درب‌دار و تمیز، گیره مخصوص حمل ویال را تهیه و دمای آنها به حرارت اتاق رسانده شود.
  - وزن ویال موردنظر را ابتدا خالی و سپس با ریختن ده میلی‌لیتر آب (مثلاً برای پیپت ۱۰ml) داخل آن اندازه‌گیری نموده و اختلاف در دو حالت محاسبه گردد.
  - عامل تصحیح وزن برای فشار و دمای محل آزمایشگاه با توجه به جداول مرتبط و موجود در کتب مرجع، استخراج و در محاسبات به کار گرفته شود.
  - با توجه به فرمول زیر، میزان عدم صحت محاسبه گردد:
- عامل تصحیح × اختلاف وزن ویال در حالت‌های خالی و پرآب = وزن آب بدست‌آمده
- ۱۰۰ × {وزن آب مورد انتظار / (وزن آب بدست‌آمده - وزن آب مورد انتظار)} = میزان عدم صحت (%)
- ۲- روش اسپکتروفتومتری: در ابتدا معادل حجم مورد نظر پیپت از یک محلول رنگی مثل دی‌کرومات پتاسیم توسط پیپت مورد نظر و پیپت استاندارد برداشت و در بالن روزه رقیق

می‌شود. سپس جذب نوری محلولها با اسپکتروفوتومتر کالیبر شده، در طول موج مشخص برای ماده رنگی مورد نظر قرائت و مشابه فرمول بالا میزان عدم صحت تعیین می‌گردد.

#### • کنترل دقت

در صورت شست‌وشوی مناسب و رعایت خط مینیسک مایع توسط پرسنل کارآموزده، به تجربه ثابت گردیده است که حجم برداشت شده توسط پیپت در دفعات متوالی تقریباً یکسان است، لذا عامل عدم دقت در این مورد در نظر گرفته نمی‌شود.

#### کالیبراسیون

در صورت عدم صحت قابل قبول، پیپت مورد نظر از سرویس خارج می‌گردد.

#### ایمنی

➤ پیپت کردن با دهان ممنوع است.

➤ اصول ایمنی کار با وسایل شیشه‌ای رعایت گردد.

در جدول ۴-۲، میزان صحت انواع پیپت‌ها بیان گردیده است.

Table 4-2: Accuracy Tolerances of Various Types of Pipettes

Volumetric Transfer Pipettes			Measuring & Serological Pipettes	
Tolerances, ±ml*			Tolerances, ± ml	
Capacity (ml)	Class A	Class B	Capacity (ml)	Class B
0.5	0.006	0.012	0.1	0.005
1.0	0.006	0.012	0.2	0.008
2.0	0.006	0.012	0.25	0.008
3.0	0.01	0.02	0.5	0.01
4.0	0.01	0.02	0.6	0.01
5.0	0.01	0.02	1.0	0.02
10.0	0.02	0.04	2.0	0.02
15.0	0.03	0.06	5.0	0.04
20.0	0.03	0.06	10.0	0.06
25.0	0.03	0.06	25.0	0.10
50.0	0.5	0.10		
100.0	0.08	0.16		

Modified from ZDean JA, Analytical chemistry handbook. New York: McGraw- Hill. 1995:1.56.  
 \* Accuracy tolerances for volumetric transfer pipettes are given by ASTM Standard E969-02 «Standard Specification for Glass Volumetric (Transfer) Pipettes». West Conshohocken, PA: American Society for Testing of Material, 2003 and Federal Specification NNN-P-395.  
 Accuracy tolerances for measuring pipettes are given by Federal Specification NNN-P-350 and for serological pipettes by Federal Specification NNN-P-375.  
 Class A pipettes are manufactured to the highest tolerances. Class B pipettes have tolerances approximately twice that of Class A pipettes.  
 Source: TIETZ Textbook of Clinical Chemistry - 2006