



Numune Hazırlamanın Preanalitik Evredeki Önemi: Ekipman ve Pipetleme

Koza MURAT

Ekipman ve Pipetleme



Ekipman ve Pipetleme

- Örnek hazırlık aşaması
 - Analizin doğru sonuçlanması açısından çok önemli
 - Ekipmanlar
 - Pipetler ve pipetleme

Tüm ekipmanlar doğru ve etkin kullanılmalı



Laboratuvar Ekipmanları

Cam Malzemeler

**Diğer Ekipmanlar
(hassas terazi, su banyosu, karıştırıcı)**

Non-volümetrik

Volümetrik

Beher

Erlenmeyer

**Test
Tüpü**

to Contain

to Deliver

Silindir

**Kapiller
Pipet**

**Balon
Joje**

Buret

**Büllü
pipet**

**Dereceli
Pipet**

Ekipman ve Pipetleme

- **Cam Malzemeler**
- Klinik laboratuvarlarda genellikle yüksek ısıya dayanıklı *borosilikat* cam malzemeler kullanılmakta
 - *Polisitren, polypropilen, polikarbonat ve polivinilklorid* yapısındaki plastik malzemeler kullanılmakta
- Cam Malzemeler
 - Volümetrik
 - Non-volümetrik

Ekipman ve Pipetleme

- **VOLÜMETRİK**

- **PİPETLER**

- **MEZÜR**

- **BÜRET**

- **BALON JOJE**

- **Standart Solüsyonların Hazırlanması**

- **NON-VOLÜMETRİK**

- **BEHER**

- **ERLENMAYER**

- **TEST TÜPLERİ**

- **Kaynatma, Karıştırma ve Titrasyon**

Ekipman ve Pipetleme

Cam Malzeme Kalibrasyonunda Temel Prensipler

Saklama Amaçlı Kaplar(TC)

- Kaptaki kapasite işareti kadar sıvı saklanır
- Saklanan miktarın tamamı aktarılamaz
- Kap iç cidarına sıvının yapışması söz konusu

Aktarım Amaçlı Kaplar(TD)

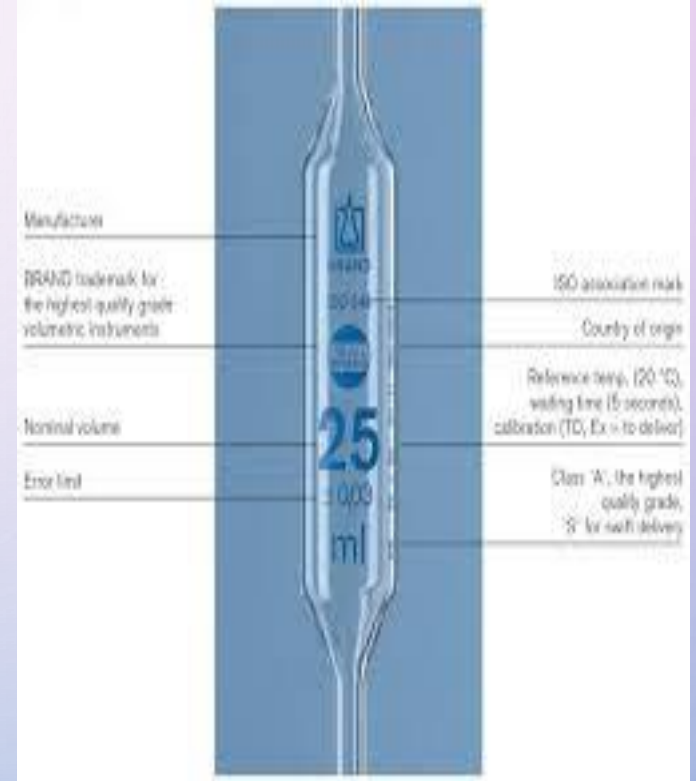
- Üzerindeki hacim işareti, hedeflenen taşıma hacmini sağlayacak şekilde bir miktar fazla yapılmıştır.
- İşaretleme yapılırken sıvının 20°C sıcaklıkta olacağı varsayılmıştır.

Ekipman ve Pipetleme

Cam Malzeme Kalibrasyonunda Temel Prensipiler

• Üreticiye Göre Kalibrasyon

- Kapasite
İşareti/Derecelendirmesi
 - Kap üstünde hacmi gösteren işaretler bulunur
 - İşaret çizgileri yapılacak ölçüme uygun çizilmiştir

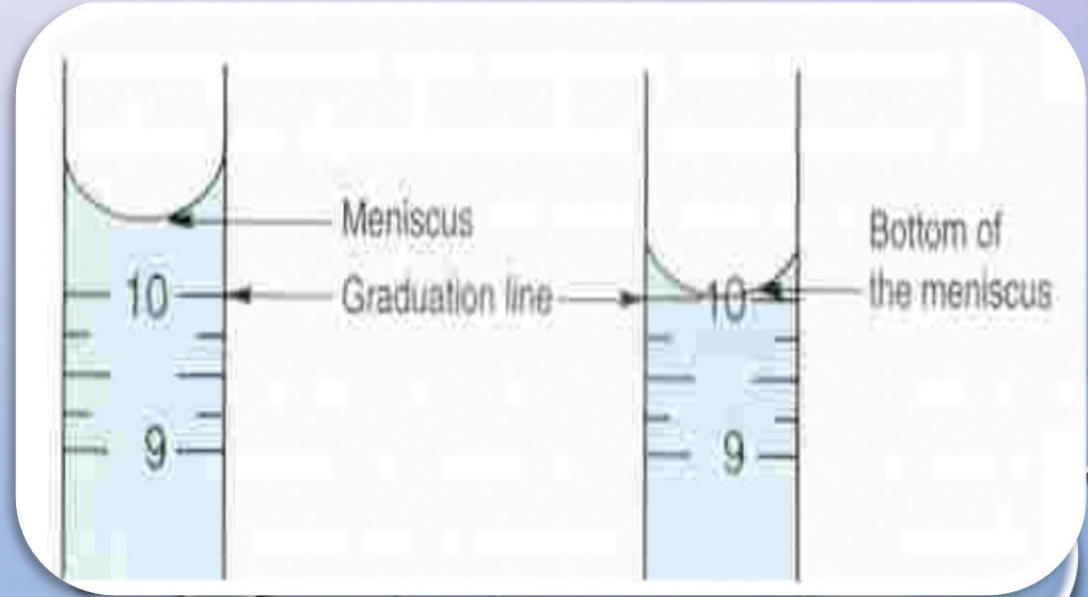


Ekipman ve Pipetleme

Cam Malzeme Kalibrasyonunda Temel Prensipler

• Menisküs

- Kap kullanımında dikkate alınmalı
- Ölçüm cihazı gibi dar hacimlerde sıvı yüzeyinin aldığı şekildir
- Menisküsün en alt noktası kalibrasyonda referans alınır
- Doğru bir ölçüm için kap göz hizasında tutulmalı



Ekipman ve Pipetleme

Non-volümetrik Kaplar

- **Beher ve Erlenmeyer Beher**
 - Sıvı saklamada kullanılır
 - Ölçü amaçlı değildir
 - $\pm 5\%$ Toleransta kalibre edilmiştir
 - 100ml çizgisi 95-105ml arasında bir hacmi gösterir

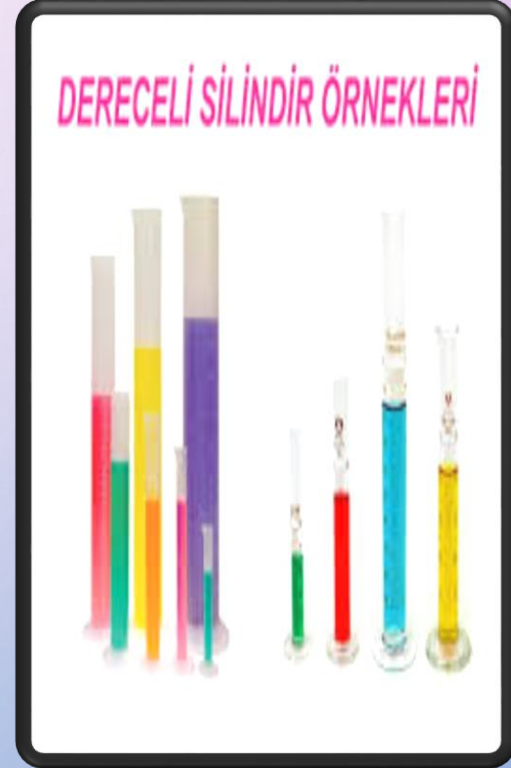


Ekipman Ve Pipetleme

Volümetrik Kaplar

• Dereceli Silindir

- Hacim ölçümü için uygun hassasiyette kalibre edilmiş silindir kaplardır
- Toleransı $\pm 0,6\text{ml}$ 'dir
- Genellikle kalibre edilmiş aktarım amaçlı kaplardır
- İhtiyaca göre farklı derecelendirilmiş silindirler bulmak mümkün
- Sıvı karıştırmak veya saklamak için dizayn edilmemiştir



Ekipman ve Pipetleme

- **Büret**

- Bir ucunda musluğu olan uzun dereceli silindirlerdir
- Hassas hacimde sıvı vermede kullanılırlar

- **Balon Joje**

- Dereceli silindirden daha hassas bir hacim ölçümü gerektiğinde kullanılır
- Aktarım veya saklama amaçlı tek bir hacim değeri için kalibre edilmiştir
- Dezavantajları
 - Nispeten pahalıdır
 - Tek bir hacim değeri için kalibre edilmiştir
 - Sadece yüksek hassasiyette hacim ölçümü gerektiren durumlarda kullanılır



Ekipman ve Pipetleme

Cam Malzemelerin Temizlenmesi

- Çalışmaya başlamadan önce kullanılacak malzemelerin temiz olması gerekir.
- Temizlik için su, sıcak su, deterjan, sabun, sulandırılmış asit ya da baz, konsantre asit ya da baz ve distile su kullanılır.
- Cam malzeme önce kaba kirlerinden arındırılır, deterjanlı sıcak su ile yıkanır, bol su ile durulanır ve distile su ile durulanarak suların süzülmesi için masa üstüne dizilir. Daha sonra kurutma dolaplarında kurutulur ve her türlü dış etkiden korumak için dolaplara yerleştirilir.
- Ancak bazen malzemelerin temizliği bu şekilde yapılamaz, anlattığımız işleme ilaveten özel temizleme solüsyonları ile yıkanır.

Ekipman ve Pipetleme

Bazı Laboratuvar Aletleri ve Özellikleri

• Hassas Terazî

- Hassas olmaları nedeniyle çok dikkatli kullanılmalıdır ve bulunduğu yerdeki zeminin düz olması gerekir.
- Sarsıntıdan ve oksitleyici, bozucu gazlardan uzakta tutulmalıdır.
- Tartılacak madde önceden darası alınmış bir kap veya kâğıt parçasının üzerine konulur. Terazinin kefesine elle baskı yapılmaz.
- Sıcak maddeler soğutulduktan sonra tartılmalıdır.
- Üzerine kimyasal döküldüğü zaman anında temizlenmelidir.
- Kullanılmadıkları zaman üzerleri daima kapalı olmalıdır.



Ekipman ve Pipetleme

• Su Banyosu

- Isıtma ve buharlaştırma işlemlerinde kullanılır.
- Buharlaşan maddeyi sıçratmamak ve cam kapları çatlatmamak gibi avantajları vardır.
- Cihazın içinde bulunan su istenilen sıcaklığa termostatla ayarlanır.



• Manyetik Karıştırıcı

- Titrasyon işlemlerinde, zor çözünen kimyasallarla çözelti hazırlanırken çözündürme işlemlerinde kullanılır.
- Çözeltinin içine magnet ya da balık denilen mıknatıslı bir çubuk konur. Manyetik alanın etkisiyle dönen mıknatıslı çubuk çözeltinin homojen bir şekilde karışmasını sağlar.



Ekipman ve Pipetleme

- **Shaker**

- Düz bir yüzeyde daire şeklinde dönen ya da gidip gelmek suretiyle üzerine konan sıvı ve katı maddeleri karıştırırlar

- **Ph Metre**

- 0-14 skalaları arasında ortamın Ph'ını ölçer.
- Elektrotlar saf su ile yıkanarak, Ph'ı belirli olan bir standart çözeltiliye batırılır. Sıcaklık ayarı yapılarak, Ph ayarlanır.
- Elektrotlar tekrar saf su ile yıkanarak, silinir ve Ph'ı belirlenmek istenen çözeltili içine batırılır ve Ph'ı ölçülür.
- Ph ölçümünden sonra elektrotlar saf su ile yıkanarak, tekrar saf su içine daldırılır.



Ekipman ve Pipetleme

- **Etüv-inkübator**

- Hassas bir şekilde belirli bir sıcaklık sağlayabilen ısıtma cihazlarıdır.
- Sterilizatör ve kurutma dolaplarına benzer, ısı derecesi en çok 1000°C civarındadır. Genellikle kurutma işlemlerinde kullanılır.

- **Saf Su Cihazı**

- Cihazın içine gelen su rezistanslarla ısınır, oluşan buhar soğuk suyun geçtiği borulara değdiği zaman tekrar sıvı hale gelir. Oluşan bu su toplanarak laboratuvardaki tüm analiz, solüsyon hazırlama gibi işlerde kullanılır.
- Damıtma nedeni ile suyun bikarbonatlarından ileri gelen geçici sertliği giderilmektedir. Dolayısıyla su yumuşamakta ve önemli ölçüde kirliliğinden temizlenmektedir.

Ekipman ve Pipetleme

- Pipetler ve pipet kullanımı
 - Hasta numunelerin dilüsyonu
 - test reaktiflerinin hazırlanması
 - Kontrol ve kalibratörlerin hazırlanması



Ekipman ve Pipetleme



1950
Carlsberg Pipettes



1958
First Eppendorf Pipette



1974
First Gilson Pipette



1984
first autoclavable
multichannel pipette.



Present
Electronic
pipette

For details on evolution ,please click [here](#)

Ekipman Ve Pipetleme

- Cam pipetler:
 - Volümetrik (büllü) pipet
 - Dereceli pipetler
 - Mohr
 - Serolojik
 - Sulandırma pipetleri
- Otomatik /Yarı otomatik pipetler

Ekipman Ve Pipetleme

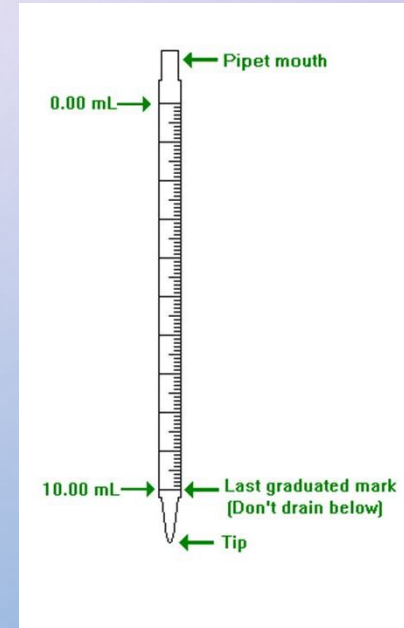
Volümetrik (büllü) pipetler

- Hassasiyetleri en fazla olan pipetler
- Standart, kalibratör ve kalite kontrol materyallerinin dilüsyonunda tercih edilmeli



Ekipman ve Pipetleme

- Dereceli pipetler:
 - Mohr pipeti
 - Serolojik pipetler



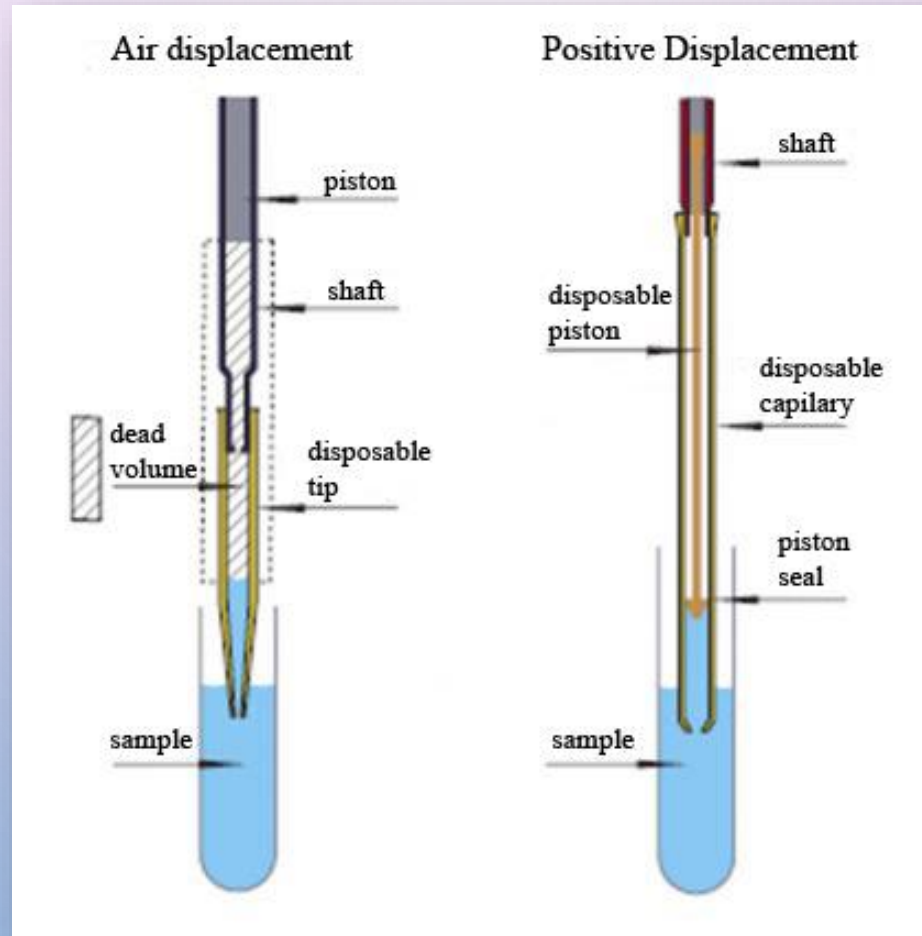
Ekipman ve Pipetleme

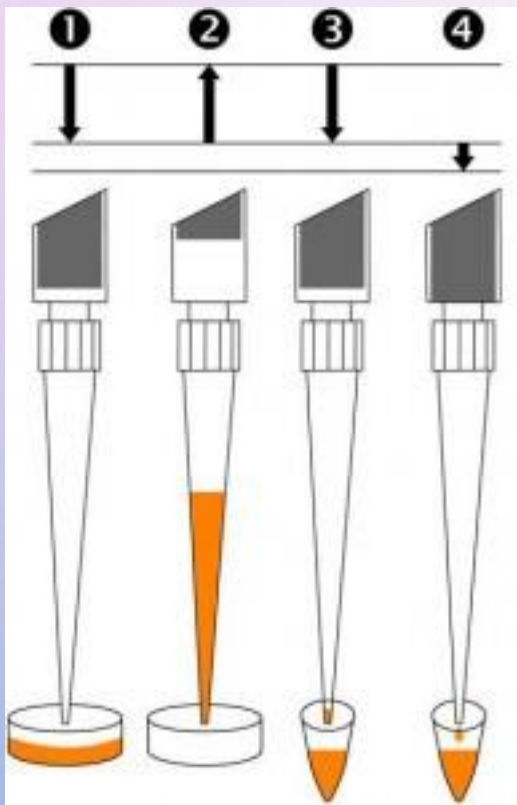
- Cam pipetlerin kalibrasyonunun kontrolü
 - Pipetle belli sıcaklıkta ve belli hacimde su alınarak tartılır.
 - Diğer taraftan alınan hacimdeki su için teorik ağırlık ve bunun aynı zamanda 0,005 standart sapmaya göre alt-üst değerleri hesaplanır.
 - Pipetle alınan belli hacimdeki suyun tartılarak saptanan ağırlığı hesaplanan değerin alt-üst sınırları arasında kalıyorsa pipetin hassasiyeti yeterlidir.
 - Bu sınırlar dışında kalıyorsa pipetin hassasiyeti bozulmuştur.

Ekipman ve Pipetleme

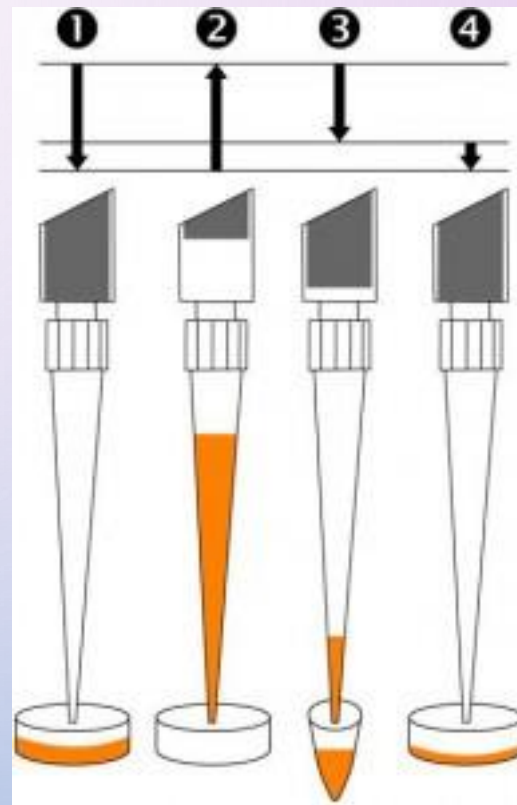
- Otomatik/semiotomatik pipetler
- Klinik kimya laboratuvarında rutinde en sık kullanılan pipetler
 - Güvenli
 - Stabil
 - Kullanımı kolay
 - Temizlenmesi daha kolay
 - Otomatik pipetler
 - Air displacement
 - Pozitive displacement

Ekipman ve Pipetleme



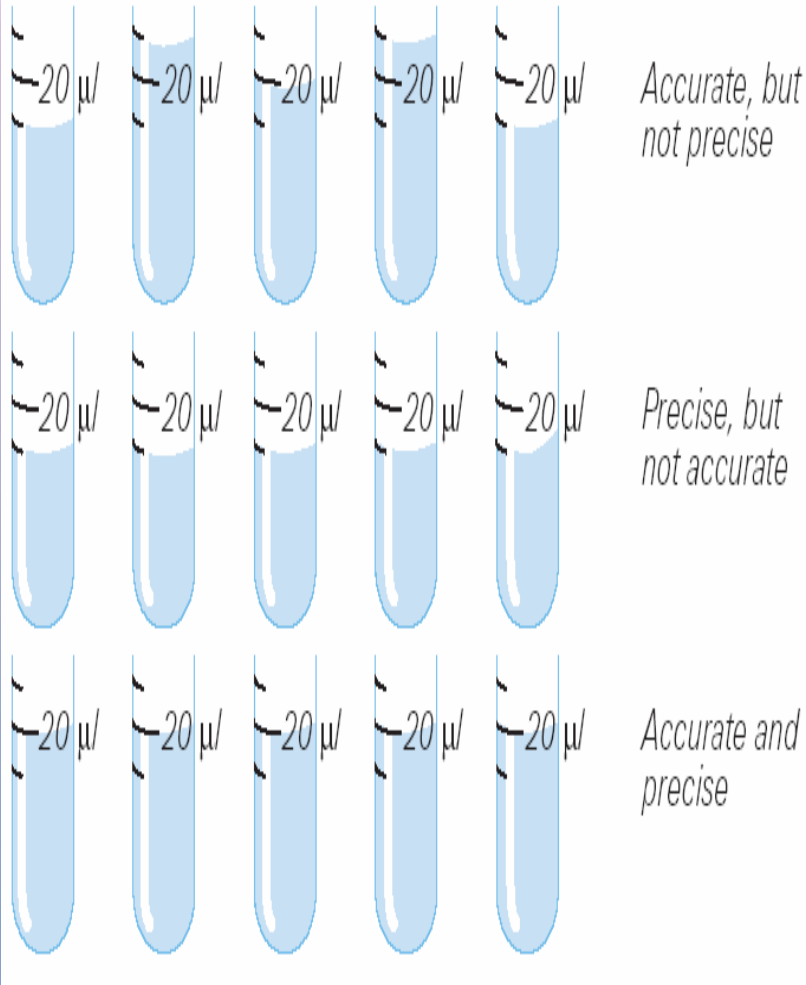


Forward Pipetting Technique



Reverse pipetting technique

Ekipman ve Pipetleme



Otomatik pipet kalibrasyonu yılda bir veya iki defa düzenli yapılmalıdır.

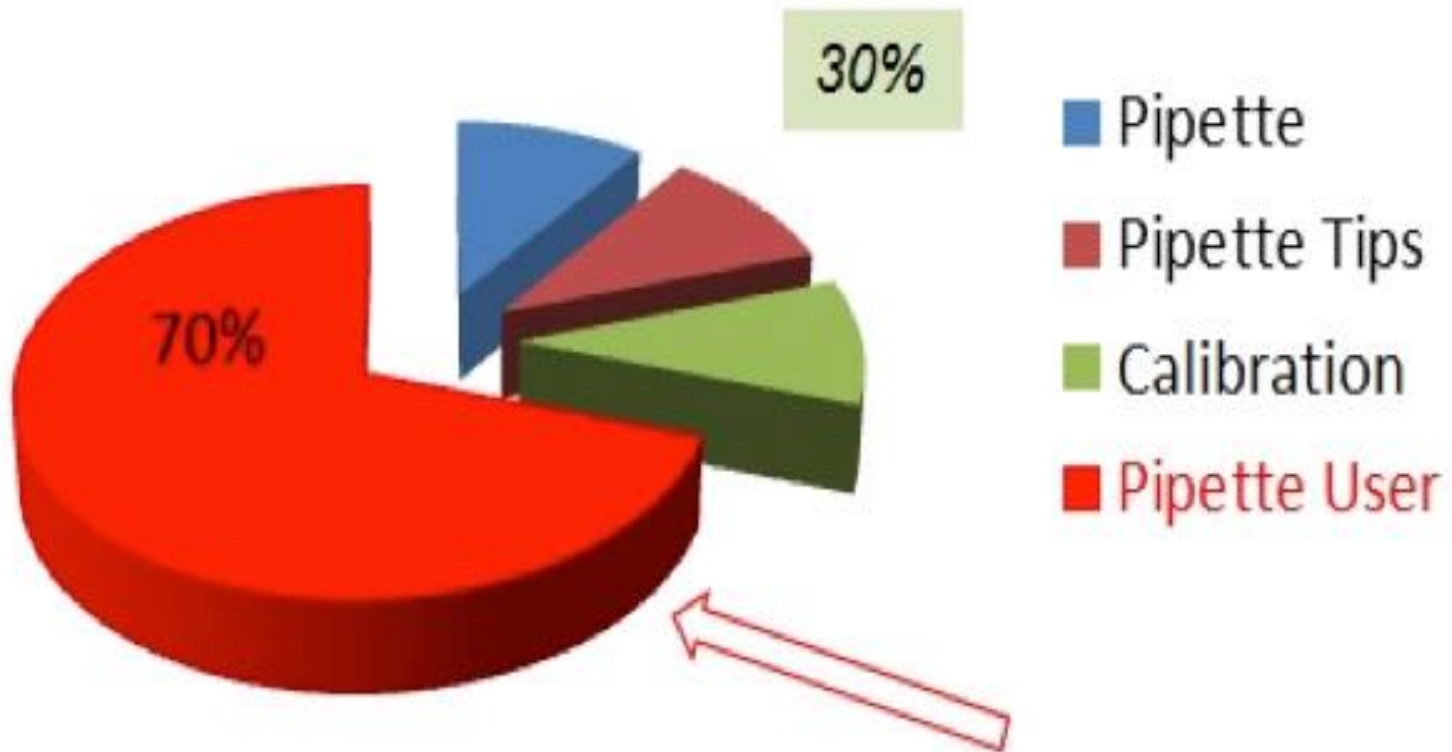
- **OTOMATİK PİPET KALİBRASYONU**
- Belirlenen hacimde distile su pipetlenir(10 kez)
- Her pipetleme sonrası çekilen hacim hassas terazide ölçülür.
- Hesaplama
 - Ortalama ağırlık
 - CV
 - Standart deviasyon
- Değerlendirme :
 - ISO 8655

Nominal volume μl	Maximum permissible systematic error		Maximum permissible random error	
	$\pm\%$	$\pm\mu\text{l}^a$	$\pm\%^b$	$\pm\mu\text{l}^c$
1	5,0	0,05	5,0	0,05
2	4,0	0,08	2,0	0,04
5	2,5	0,125	1,5	0,075
10	1,2	0,12	0,8	0,08
20	1,0	0,2	0,5	0,1
50	1,0	0,5	0,4	0,2
100	0,8	0,8	0,3 ^d	0,3 ^d
200	0,8	1,6	0,3 ^d	0,6 ^d
500	0,8	4,0	0,3	1,5
1 000	0,8	8,0	0,3	3,0
2 000	0,8	16	0,3	6,0
5 000	0,8	40	0,3	15,0
10 000	0,6	60	0,3	30,0

Questions	Answers
1. What is the mean in μL ?	49,2
2. What is the coefficient of variation (%C.V.)?	6.1
3. What is the standard deviation in μL ?	3
4. What is the accuracy error of this pipette?	%1,6
5. Why or why not is this pipette acceptable to use?	not acceptable

Ekipman ve Pipetleme

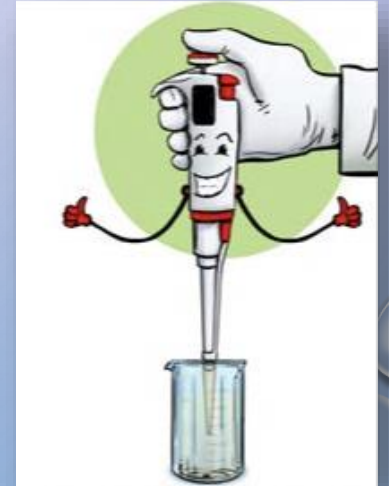
Major Sources of Pipetting Error in the Lab



Ekipman ve Pipetleme

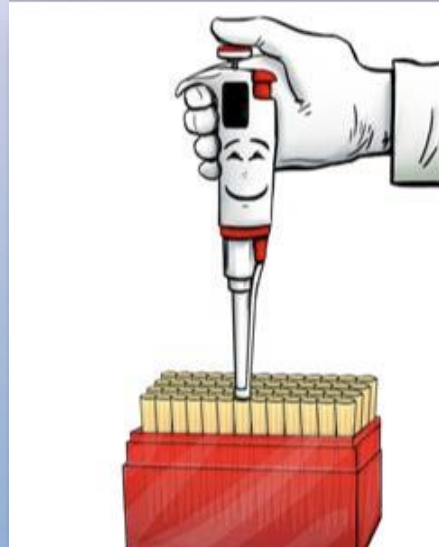


1. **Günlük temizlik ve kontrol yapılmalı**
2. **Uygun pipet kullanılmalı**
3. **Doğru pipetleme tekniği kullanılmalı**



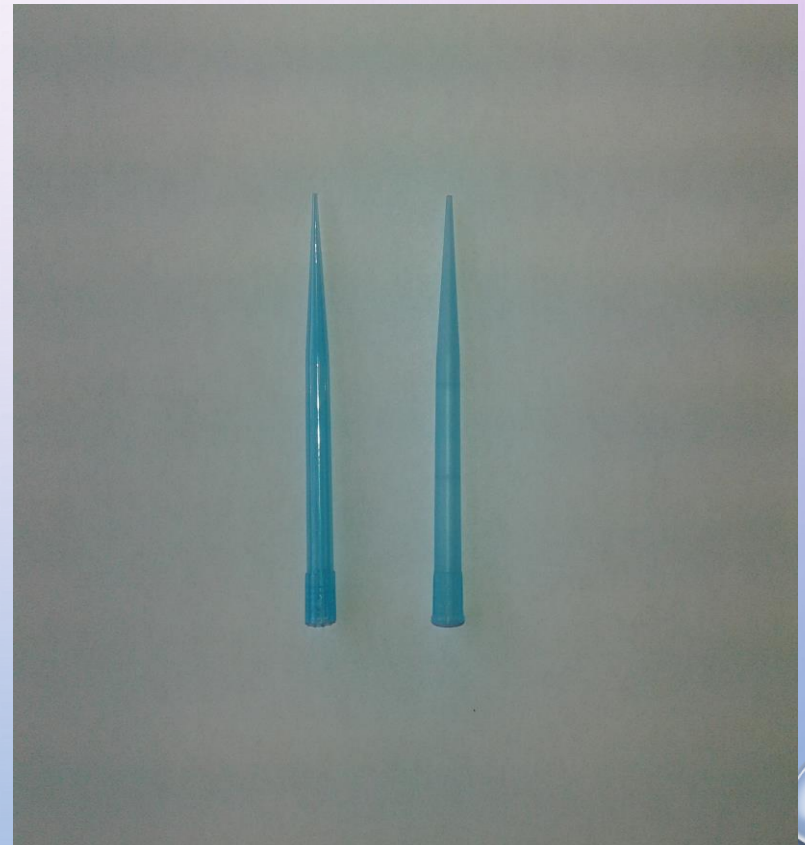
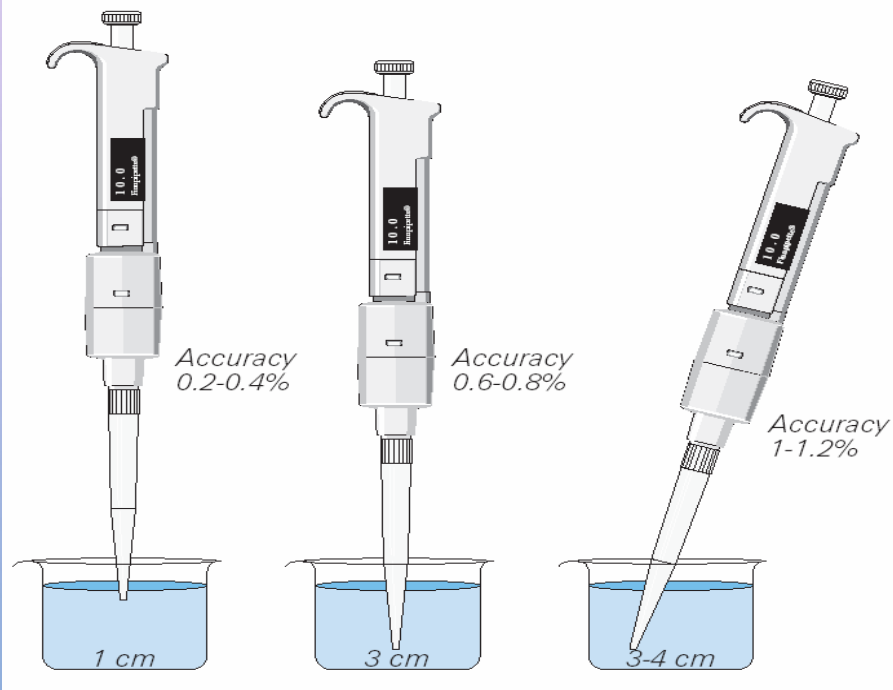
Ekipman ve Pipetleme

3. Pipet ucu önceden ıslatılmalı
4. Doğru pipet ucunu kullanılmalı
5. Sabit sıcaklıkta çalışılmalı



Ekipman ve Pipetleme

**The effect of the pipetting position
(e.g. using a 2-10 ml pipette)**



Ekipman ve Pipetleme

- Kalite yönetim sistemi içinde ekipman yönetimi çok önemli olup tüm ekipmanlar için kullanım ve bakım talimatları bulunmalı; bakım, onarım ve kalibrasyonları periyodik olarak yapılarak kayıt altına alınmalıdır.
- Laboratuvarlarda pipetleme sırasındaki hataların % 70'inin kullanıcı kaynaklı olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Bu nedenle kullanıcılara doğru pipet kullanım teknikleri konusunda eğitim verilmesi çok önemlidir.



TEŞEKKÜR EDERİM