



หน้า : 1/5

 สภาเภสัชวิทยา The Thai Red Cross Society ฝ่ายจุลชีววิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 1873 ถนนราชดำริ ปทุมวัน กทม. 10330	วิธีปฏิบัติงาน (Work Instruction) ทุกหน่วยงาน	WI-18-016 แก้ไขครั้งที่ : 0 วันที่ 1 กุมภาพันธ์ 2554 หน้า : 2/5
เรื่อง : การใช้เครื่องดูดปล่อยสารละลาย (Autopipette)		

1. วัตถุประสงค์

เพื่อเป็นวิธีปฏิบัติในการใช้เครื่องดูดปล่อยสารละลาย (autopipette) ในการทำการทดสอบ ภายในห้องปฏิบัติการได้อย่างถูกต้อง และเหมาะสม

2. การใช้งาน

2.1 การปรับปริมาตรของ Pipetman

Model	Volume recommendation (µl)
P10	0.5 - 10
P20	2.0 - 20
P100	20.0 - 100
P200	50.0 - 200
P1000	200.0 - 1000

ที่ปรับปริมาตรจะแสดงเป็นเลข 3 หลัก อ่านจากบนลงล่าง ซึ่งจะแสดงปริมาตรที่เลือก ตัวเลขมีสีดำและแดง สำหรับรุ่น P2, P10, P20, P100 และ P200 ตัวเลขสีดำจะแสดงในหน่วยไมโครลิตร ส่วนตัวเลขสีแดงจะแสดงในหน่วย 10 และ 100 ไมโครลิตร

P20	P100	P200
1	0	1
2	7	2
5	5	5
12.50 µl	75 µl	125 µl

สำหรับรุ่น P1000 ตัวเลขสีแดงจะแสดงในหน่วยมิลลิลิตร และตัวเลขสีดำแทนในหน่วยไมโครลิตร

P1000

0
7
5

0.75 ml

 มูลนิธิสภามหาวิทยาลัย The Thai Red Cross Society ฝ่ายจุลชีววิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 1873 ถนนราชดำริ ปทุมวัน กทม. 10330	วิธีปฏิบัติงาน (Work Instruction) ทุกหน่วยงาน	WI-18-016 แก้ไขครั้งที่ : 0 วันที่ 1 กุมภาพันธ์ 2554 หน้า : 3/5
เรื่อง : การใช้เครื่องดูดปล่อยสารละลาย (Autopipette)		

การปรับปริมาตรทำได้โดยการหมุนแหวนสีดำ (Adjustment Knob) เมื่อต้องการลดปริมาตรลงให้ค่อยๆ หมุนปรับเข้าๆ จนได้ปริมาตรที่ต้องการ อย่าให้เกินที่ทำเครื่องหมายไว้ เมื่อต้องการเพิ่มปริมาตรให้หมุนปรับไปจนเกินกว่าปริมาตรที่ต้องการปรับประมาณ 1 ใน 3 ของรอบ หลังจากนั้นค่อยๆ ทำการลดปริมาตรลงเข้าๆ จนได้เท่ากับปริมาตรที่ต้องการ

ส่วน Autopipette ยี่ห้ออื่นๆ การปรับปริมาตรใช้หลักการเดียวกัน

2.2 การใช้งาน

ใส่ Tip เข้ากับก้านสูบ (tip holder) (ดูชนิดของ Tip ในหัวข้อที่ 6) กด Tip ให้แน่นโดยการหมุนบิดเข้าไปเบาๆ เพื่อผนึกไม่ให้อากาศรั่ว

หมายเหตุ อย่าใช้ Pipetman ดูดสารละลายโดยไม่ใช้ Tip เป็นอันตราย

2.3 การดูดสารละลาย

กดปุ่มด้านบน (Push Button) ลงไปจนถึงจังหวะหยุดจังหวะแรก ถือ Pipette ในแนวตั้งแล้วจุ่มลงในสารละลาย ตามตารางแนะนำข้างล่าง :

Model	ความลึกของการจุ่ม
P20-P100	2-3 มม.
P200-P1000	2-4 มม.

หลังจากนั้นค่อยๆ ปล่อยปุ่มกดลงไปอย่างช้าๆ และสัมผัสเพื่อดูดสารละลาย รอประมาณ 1 วินาที แล้วจึงยก Tip ออกจากสารละลาย หลีกเลี่ยงการสัมผัสกับปลาย Tip

2.4 การปล่อยสารละลาย

นำ Tip ใส่ลงในภาชนะที่ต้องการโดยให้ปลาย Tipแตะกับขอบด้านในของภาชนะเป็นมุมประมาณ 10-40 องศา กดปุ่มอย่างช้าๆ สัมผัสจนถึงตำแหน่งหยุดตำแหน่งแรก รอประมาณ 1 วินาที แล้วกดปุ่มลงไปจนสุด (ตำแหน่งหยุดที่ 2) เพื่อไล่หยดสุดท้ายออกจาก Tip คงกดปุ่มจนสุดไว้ขณะนำ Tip ออกจากภาชนะ โดยแตะกับด้านข้างภาชนะไว้ หลังจากนั้นจึงปล่อยปุ่มกดปลด Tip ออก ด้วยการกดปุ่มสำหรับปลด Tip (Tip Ejector) ซึ่งจะใช้เมื่อมีการเปลี่ยนตัวอย่างหรือเปลี่ยนปริมาตร

2.5 การล้างก่อนใช้งาน

เมื่อทำการตรวจสอบสารละลายที่มีความหนืดและหนาแน่นกว่าน้ำ เช่น ตัวทำละลายอินทรีย์ จะทำให้เกิดฟิล์มบางๆ ที่ผนังด้านในของ Tip ซึ่งจะทำให้เกิดความผิดพลาดขึ้นได้ ถ้าแผ่นฟิล์มที่เกิดขึ้นมีในปริมาณที่คงที่ การใช้ Tip อันเดิมสามารถแก้ปัญหาความผิดพลาดนี้ได้ โดยการทำให้เกิดฟิล์มขึ้นก่อนที่

 THE THAI RED CROSS SOCIETY The Thai Red Cross Society ฝ่ายจุลชีววิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 1873 ถนนราชดำริ ปทุมวัน กทม. 10330	วิธีปฏิบัติงาน (Work Instruction) ทุกหน่วยงาน	WI-18-016 แก้ไขครั้งที่ : 0 วันที่ 1 กุมภาพันธ์ 2554 หน้า : 4/5
เรื่อง : การใช้เครื่องดูดปล่อยสารละลาย (Autopipette)		

จะทำการตรวจตัวอย่างแรกทำได้โดยดูดและปล่อยในภาชนะเดิม เมื่อเกิดฟิล์มขึ้นแล้วจึงทำการตรวจตัวอย่างต่อไปซึ่งจะมีความถูกต้องและแน่นอนขึ้น

การทำการล้าง Tip ก่อนนี้จะต้องทำทุกครั้งเมื่อมีการเปลี่ยนปริมาตรหรือเปลี่ยน Tip ใหม่

2.6 ของเหลวที่มีความหนาแน่นและความหนืด

สำหรับตัวอย่างที่มีความหนาแน่นและความหนืด จะมีการปรับชดเชยโดยการตั้งปริมาตรสูงกว่าปริมาตรที่ต้องการ สำหรับตัวอย่างที่มีความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำ การปรับชดเชยโดยการตั้งปริมาตรต่ำกว่าปริมาตรที่ต้องการ

ตัวอย่าง ตรวจสารละลาย “เซรุ่ม” 10 ไมโครลิตร ด้วย Pipetman P20 ตั้งปริมาตรที่ 10 ไมโครลิตร ดูดสารละลายแล้วทำการชั่งน้ำหนักด้วยวิธี Gravimetric ถ้าปริมาตรที่ได้เท่ากับ 9.5 ไมโครลิตร ความผิดพลาดเท่ากับ 0.5 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรเป็น 10.5 ไมโครลิตร แล้วทำการวัดซ้ำ ถ้าการวัดครั้งที่ 2 ไม่ถูกต้องเพียงพอให้ปรับปริมาตรขึ้นหรือลง เพื่อหาความผิดพลาดที่เกิดขึ้น เมื่อปล่อยสารละลายที่มีความหนาแน่นหรือหนืดกว่าน้ำ ก่อนจะไล่หยดสุดท้ายให้รอให้นานกว่าจังหวะหยุดจังหวะแรกประมาณ 1-2 วินาที

3. การบำรุงรักษา

3.1 ถ้าสารละลายเข้าไปในก้านสูบให้ล้างออก แล้วปฏิบัติดังนี้

ถอดที่ปลด Tip ออก ถอดน็อตยึดก้านสูบออก ล้างก้านสูบ, ลูกสูบ, ซีล และแหวนยางด้วยน้ำกลั่นหรือ Isopropanol 70% รอให้แห้งก่อนประกอบเข้าไปใหม่สำหรับ รุ่น P5000 และ P10ml มีไส้กรองอยู่ในก้านสูบ ควรเปลี่ยนใหม่เมื่อเปียกหรือขึ้น

หมายเหตุ ถ้าจำเป็นต้องฆ่าเชื้อ ก้านสูบ น็อต และที่ปลด Tip สามารถอบฆ่าเชื้อได้ที่ 121°C แรงดัน 1 บรรยากาศ นาน 20 นาที ห้ามนำซีลและแหวนยางไปอบโดยเด็ดขาด

ภายนอกของ Pipetman ทำความสะอาดได้ ใช้ผ้าชุบ ethanol หรือ Methanol 70% เช็ด

3.2 ถ้าเกิดฟองอากาศขึ้นเมื่อทำการดูดสารละลาย ปฏิบัติดังนี้

- ปล่อยสารตัวอย่างกลับลงไปภาชนะ
- ตรวจสอบว่าปลาย Tip จุ่มลงในสารละลาย
- ดูดสารละลายอย่างช้าๆ

ถ้ายังเกิดฟองอากาศอีกให้เปลี่ยน Tip ใหม่ เมื่อทำตามขั้นตอนที่กล่าวมาแล้วยังมีปัญหาเกิดขึ้นส่ง Pipetman ให้ตัวแทนจำหน่ายเพื่อทำการตรวจสอบต่อไป

4. วิธีการสอบเทียบ

ส่งสอบเทียบภายนอก

 สภาอาสาสมัคร The Thai Red Cross Society ฝ่ายจุลชีววิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 1873 ถนนราชดำริ ปทุมวัน กทม. 10330	วิธีปฏิบัติงาน (Work Instruction) ทุกหน่วยงาน	WI-18-016 แก้ไขครั้งที่ : 0 วันที่ 1 กุมภาพันธ์ 2554 หน้า : 5/5
เรื่อง : การใช้เครื่องดูดปล่อยสารละลาย (Autopipette)		

5. ข้อควรระวัง

5.1 เพื่อความถูกต้องและแม่นยำสูงสุด กรุณาปฏิบัติตามคำแนะนำอย่างเคร่งครัด

- 5.1.1 ขณะดูดและปล่อยสารให้ทำด้วยความนุ่มนวลและสม่ำเสมอ
- 5.1.2 การจุ่ม Tip ลงในตัวอย่างขณะกดให้จุ่มลงน้อยที่สุดเท่าที่ทำได้ และให้จุ่มในระดับคงที่ตลอดเวลาที่ดูดสารละลาย
- 5.1.3 ถือ Pipette ในแนวตั้งตรงเสมอ
- 5.1.4 เปลี่ยน Tip ทุกครั้งเมื่อมีการเปลี่ยนชนิดของตัวอย่าง
- 5.1.5 เปลี่ยน Tip ใหม่เมื่อมีหยดของสารละลายค้างที่ปลาย Tip
- 5.1.6 เมื่อเปลี่ยน Tip ใหม่ให้ทำการล้าง (ดูด-ปล่อย) ก่อนที่จะดูดสารละลายตัวอย่าง

5.2 ระวังอย่าให้สารละลายเข้าไปในก้านสูบ ป้องกันได้โดย

- กดและปล่อยสารละลายนุ่มนวลและสม่ำเสมอ
- อย่าหงายปลาย Pipette ขึ้น
- อย่าวาง Pipette ลง เมื่อมีสารละลายอยู่ใน Tip

5.3 ห้ามใช้สารหล่อลื่นกับลูกสูบและซีล

5.4 ห้ามปรับปริมาตรเกินกว่าระดับที่แนะนำไว้ของแต่ละรุ่น

5.5 เมื่อทำการดูดสารที่มีอุณหภูมิแตกต่างจากอุณหภูมิห้องปกติควรทำการล้าง (ดูด-ปล่อย) 2-3 ครั้งก่อนที่จะดูดตัวอย่าง

5.6 ห้ามดูดสารละลายที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 70°C

เมื่อต้องใช้ดูดสารละลายที่เป็นกรดหรือที่มีฤทธิ์กัดกร่อนให้ถอดก้านสูบออกแล้วล้างลูกสูบ ซีล และแหวนยางด้วยน้ำกลั่นหรือ Isopropanol 70% หลังการใช้งานทุกครั้ง

6. การบันทึก

6.1 บันทึกประวัติเครื่องมือ, การบำรุงรักษา, ประวัติการส่งสอบเทียบ และประวัติการส่งซ่อม ลงในแบบฟอร์มประวัติเครื่องมือ

7. เอกสารประกอบ

- คู่มือการใช้งาน autopipette ยี่ห้อ BioPette
- คู่มือการใช้ เครื่องดูดจ่ายสารละลาย (pipette man) , Gilson (SD-1808)

8. ผู้รับผิดชอบ

- เจ้าหน้าที่ที่ได้รับมอบหมาย