

## Überprüfung und Kalibration von Serologischen Pipetten für präzise Volumeneinstellung

Die zulässige Volumentoleranz für 9 ml Verdünnungslösung für die Durchführung serieller Verdünnungen zur Keimzahlbestimmung beträgt nach ISO 6887-1:2017  $\pm 200 \mu\text{l}$ , resp.  $\pm 2.2 \%$ . Der Inlabtec Serial Diluter verwendet 10 ml Serologische Pipetten als volumenbestimmendes Element. Die Dispensiergenauigkeit des Gerätes und damit die Einhaltung der normativen Vorgaben ist somit durch die Genauigkeit der Volumenangaben (Skala) auf den verwendeten Pipetten bestimmt.

Die spezifizierte Genauigkeit der Skalierung von Serologischen Pipetten aus Kunststoff beträgt in der Regel  $\pm 2 \%$ . Je nach Produktionsverfahren des Herstellers wird die Toleranz von  $\pm 2 \%$  mehr oder weniger ausgeschöpft. Bei ungenügender Qualitätssicherung durch den Hersteller wird die erlaubte Toleranz bei spezifischen Chargen gar überschritten. Die Genauigkeitstoleranz zwischen den Pipetten der gleichen Charge/ Lot ist indes in der Regel gering, da gleiche Produktionsbedingungen vorherrschen.

Wird eine Pipette im Serial Diluter installiert, addiert sich Konstruktionsbedingt ein konstantes Zusatzvolumen von ca. 50 – 100  $\mu\text{l}$  zum eingestellten Volumen. Dieses konstante Zusatzvolumen ist abhängig von der Formschlüssigkeit der serologischen Pipette mit dem Anschlussstück des Schlauchsets. Abhängig von der Genauigkeit der Pipette kann das Zusatzvolumen dazu führen, dass das tolerierte Maximal-Volumen von 9.2 ml überschritten wird.

Durch die Prüfung und allenfalls einer Kalibration der Skalierung einer Charge/ Lot der verwendeten Pipetten, ist die geforderte Genauigkeit des Serial Diluters zuverlässig und einfach zu erreichen. Ist die Abweichung der Pipettenskala vom Sollwert bekannt, so kann der Sensor an der Skala korrekt positioniert werden, um die geforderte Genauigkeit von  $\pm 2.2 \%$  einzuhalten.

### Prüfung und Kalibrierung der verwendeten Pipetten

Zuerst wird die Genauigkeit der Skala der verwendeten Pipetten überprüft, um den korrekten Wert auf der Pipettenskala für 9 ml zu bestimmen. Vorgehen:

Schritt	Durchführen	Kommentar
1	Pipette einer Charge/ Lieferung von 10 ml Serologischer Pipetten im Serial Diluter installieren.	
2	Den Sensor des Serial Diluters so einstellen, dass auf der Skala genau 9 ml Pipettenvolumen angezeigt wird.	
3	Drei Serial Dilution Bags füllen. Die gefüllten Beutel danach einzeln wiegen und Messwerte protokollieren.	Zuerst einen Beutel zum Benetzen der Schläuche des Serial Diluters füllen. Diesen Beutel nicht weiterverwenden.
4	Schritt 1 – 3 für Pipette 2 und 3 wiederholen.	Pipetten aus der gleichen Lieferung/Charge verwenden.
5	Die Messwerte in der Excel-Vorlage „Pipette_Calibration“ eintragen, um den Kalibrierwert für die getesteten Pipetten für 9 ml zu bestimmen.	

## Verifizierung der Pipetten-Kalibrierung

Der bestimmte Kalibrierwert der Pipettenskala wird mit mindestens einer weiteren Pipette der gleichen Charge überprüft. Vorgehen:

Schritt	Durchführen	Kommentar
1	10 ml Pipette aus der überprüften Charge/ Lieferung im Serial Diluter installieren.	
2	Das Pipettenvolumen auf den ermittelten Kalibrierwert für 9 ml einstellen, z.B. 8.7 ml	
3	Sechs Serial Dilution Bags füllen und gefüllte Beutel einzeln wiegen. Die Messwerte protokollieren.	Zuerst Schläuche des Serial Diluters benetzen. Dafür einen Beutel füllen. Diesen Beutel nicht weiterverwenden!
4	Messwerte pro Pipette in die Excel-Vorlage „Verification Pipettes“ eintragen und maximale Abweichung bestimmen.	
5	Schritt 1 – 4 für weitere Pipetten der Charge/ Lieferung wiederholen, z.B. für total drei Pipetten, resp. entsprechend internen Anforderungen.	

### Kommentar

- Das vom Serial Diluter dispensierte Volumen wird anhand der Skala der verwendeten Pipette eingestellt.
- Mit der Kalibrierung der Skala der Pipetten wird die erforderliche Genauigkeit für serielle Verdünnungen sichergestellt und der Prüf- und Korrekturaufwand im Routinebetrieb auf ein Minimum reduziert.
- In der Regel genügt eine Kalibrierung und Verifikation pro Charge/ Lot der verwendeten 10 ml Pipetten.
- Eine Kalibrierung ist durchzuführen, wenn Pipetten eines anderen Herstellers oder eine andere Charge Lot eines Herstellers verwendet wird.
- Um den Kalibrierungsaufwand gering zu halten, sollten Lieferungen von Pipetten aus einer Charge/ Lot bestehen (Bei Bestellungen entsprechend vermerken).
- Es empfiehlt sich, den Kalibrierwert für den die überprüften und verwendeten Pipetten am Serial Diluter anzubringen (Abb. 1).



Abb. 1: Serial Diluter mit Angabe der verwendeten Pipetten und deren Kalibrierwert für 9 ml. Für diese Pipetten N242.1 muss also der optische Sensor auf 8.7 ml eingestellt werden, um 9 ml Volumen pro Verdünnung zu erhalten