

Anwendungsspezifische Anforderungen an Verbrauchsartikel im Labor

Kornelia Ewald, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland

Zusammenfassung

Bei Verbrauchsartikeln aus Kunststoff (wie z. B. Pipettenspitzen) steigen die Anforderungen ständig. Sie müssen eine hohe mechanische und thermische Belastbarkeit aufweisen, eine große Chemikalienresistenz haben und einen hohen Reinheitsgrad besitzen. Die Reinheit von Pipettenspitzen in Bezug auf Schwermetalle (z. B. Cadmium) ist seit langem eine grundlegende Forderung, der von vielen Herstellern Rechnung getragen wird. Ebenso stellen Sterilität und biologische Reinheit zunehmend Grundvoraussetzungen für das Arbeiten mit Verbrauchsartikeln dar. Besonders in den Bereichen Biologie, Pharmazie und Medizin ist ein signifikant wachsender Bedarf an höheren Reinheitsstufen hinsichtlich Nukleinsäuren, RNasen und Pyrogenen festzustellen.

Arbeiten in der Spurenanalytik

Alle für die Herstellung von Verbrauchsartikeln verwendeten Kunststoffe sollten kontrollierte Reinheitsanforderungen erfüllen. Sie müssen bestimmte, vom Fertigungsprozess geforderte Eigenschaften haben. Die Verbrauchsartikel sollten äußerlich und funktionell keiner erkennbaren Alterung unterliegen. Die Rohstoffe (PP, PE) ermöglichen die Herstellung von Verbrauchsartikeln, die die Anforderungen heutiger Pipettiersysteme erfüllen. Zur Einfärbung der Reaktionsgefäße und Pipettenspitzen werden bei hochwertigen Verbrauchsartikeln organische, schwermetallfreie Farbstoffe verwendet.

Für die anorganische Spurenanalytik gilt, dass Verbrauchsartikel in der Regel verwendbar sind. Dies gilt auch für gefärbte Spitzen und Reaktionsgefäße. Im Zweifelsfall sollte eine Kontrolle mit solchen Produkten durchgeführt werden, die mehrere Stunden in starker Mineralsäure ausgelaugt wurden. In der organischen Analytik (Gaschromatographie, Dünnschichtchromatographie) können die Additive störend wirken, sofern sie aus dem Kunststoff herausgelöst werden können. Ob dies möglich ist, hängt vom verwendeten Lösungsmittel und von den Zusatzstoffen ab. Es empfiehlt sich, stets auch eine Blindprobe zu analysieren. Die Spitzen sollten unmittelbar vor dem Einsatz mit dem reinen Lösungsmittel mehrfach gespült werden, um lösliche Stoffe zu beseitigen, die sich an der Oberfläche befinden können.

Arbeiten mit infektiösem Material

Wichtige Voraussetzungen für das Pipettieren infektiöser Flüssigkeiten sind:

- Pipetten mit Spitzenabwurfmechanik
- Direkt mit der Pipette aus einer Box entnehmbare Pipettenspitzen
- Autoklavierbare Pipetten
- Sterilisierte Pipettenspitzen mit integriertem Filter (Filterspitzen).

Arbeiten mit radioaktivem Material

Die Arbeit mit radioaktiven Flüssigkeiten erfordert Pipetten mit Spitzenabwurfmechanik und in Boxen eingesetzte Spitzen. Der Isotopenarbeitsplatz sollte einen Satz entsprechender Pipetten mit Zubehör erhalten, der an seinem Standort verbleibt. Empfehlenswert ist es, komplizierte Arbeitsabläufe zunächst »kalt« zu erproben; so fallen Unzulänglichkeiten in der Ausrüstung des Arbeitsplatzes frühzeitig auf. Kontaminierte Verbrauchsartikel müssen entsprechend den Vorschriften der Strahlenschutzverordnung gesammelt und entsorgt werden. Für die erforderliche Dekontamination der Pipetten können handelsübliche Laborreiniger verwendet werden. Der Kolben der Pipette muss im Anschluss an eine derartige Reinigung nachgefettet werden.

Arbeiten im PCR-Labor

Aufgrund der extremen Empfindlichkeit der Polymerase Chain Reaction (PCR) sind beim Arbeiten in einem PCR-Labor spezielle Vorsichtsmaßnahmen zu treffen, um bei der Testvorbereitung und -durchführung die Kontaminationsgefahr durch native oder amplifizierte Nukleinsäure zu verringern. So sollten die einzelnen Arbeitsschritte, insbesondere die Vorbereitung und die Bearbeitung der Proben nach der Amplifikation, in voneinander getrennten Räumen oder Arbeitsbereichen erfolgen. Diese räumliche Trennung gilt gleichermaßen auch für die im Labor verwendeten Geräte und Materialien, d.h., dem Prä- und dem Post-PCR-Labor sollten daher Pipetten, Spitzen und Einmalgefäße fest zugeordnet werden. Pipetten und Spitzen, die einmal für einen Post-PCR-Schritt benutzt wurden, sollten anschließend keine Verwendung mehr im Prä-PCR-Labor finden.

Idealerweise sollte das Pipettieren von PCR-Ansätzen unter einer geschlossenen PCR-Arbeitshaube mit integrierter UV-Lampe erfolgen. Ist eine solche Arbeitshaube im Labor nicht verfügbar, sollte ein spezieller Arbeitsplatz mit einem eigenen Satz geeigneter Pipetten eingerichtet werden, der ausschließlich für das Ansetzen der PCR-Reaktion benutzt wird. Dabei sollten nur Einwegmaterialien verwendet werden, die frei von DNA, DNasen und RNasen sind. Gerade für das Ansetzen von PCR-Ansätzen wird darüber hinaus die Verwendung von Filterspitzen empfohlen, um die Gefahr der Kontamination durch Aerosole so gering wie möglich zu halten. Beim Pipettieren eines Reaktionsansatzes ist darauf zu achten, dass die Zugabe der zu amplifizierenden DNA erst nach der Zugabe aller anderen Reagenzien in das Reaktionsgefäß erfolgt, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden. Zur Vermeidung von Kontaminationen in einem PCR-Labor sollten beim Arbeiten stets Handschuhe getragen und diese bei jedem Wechsel zwischen dem Prä- und Post-PCR-Labor durch ein neues Paar ersetzt werden. Darüber hinaus müssen alle Arbeitsflächen in regelmäßigen Abständen mit großen Mengen an destilliertem Wasser bzw. verdünnter Natriumhypochlorit-Lösung gereinigt werden.

Arbeiten im Sterillabor

Die manuellen Pipetten der neuesten Generation sind komplett autoklavierbar. Damit ist dem Anwender die Sicherheit gegeben, dass einerseits wertvolle Kulturen nicht kontaminiert werden und andererseits eine Verschleppung gefährlicher Mikroorganismen unterbleibt. Einige Hersteller bieten Spitzen in autoklavierbaren Boxen an, die folgende Merkmale aufweisen:

- Während der Autoklavierung gelangt Dampf in den Innenraum der Box.
- Nach der Autoklavierung lässt sich die Box in kurzer Zeit nachtrocknen.

Bereits vom Hersteller vorsterilisierte Verbrauchsartikel haben den Vorteil, dass sie sofort verwendbar sind und der Hersteller für die Sterilität bürgt. Die Sterilisation erfolgt durch Bestrahlung oder Begasung und nicht durch Autoklavieren. Denn Sterilität durch Autoklavieren bedeutet nicht zwangsläufig auch Reinheit, da durch das Autoklavieren Kontaminationen wie DNA, RNasen oder Pyrogene nicht vollständig entfernt bzw. inaktiviert werden. Verbrauchsartikel, die neben der Sterilität auch einem hohen Reinheitsgrad entsprechen, sind frei von:

- Pyrogenen (z. B. Endotoxine)
- ATP
- DNA
- RNasen
- DNasen
- PCR Inhibitoren

Reinheitsgrade

Die stetig wachsende Vielfalt von Anforderungen im Laboralltag erfordert unterschiedliche Reinheitskriterien bei gleichbleibend hoher Qualität für Einmalartikel. Hierfür stehen unterschiedliche Reinheitsgrade des Herstellers Eppendorf (Abb. 1) bereit:

- Eppendorf Quality
- PCR clean
- Biopur
- PCR clean steril und pyrogenfrei
- Sterile
- Protein-free

Eppendorf Reinheitsgrade für Gefäße, Spitzen, Platten und Zubehör

						
Kontinuierliche Qualitätskontrolle für folgende relevante Qualitätskriterien:						
Funktion, Dichtigkeit, Präzision	●	●	●	●	●	●
Geringe Benetzbarkeit	●	●	●	●	●	●
Hohe Chemikalienbeständigkeit	●	●	●	●	●	●
Hohe thermische Stabilität	●	●	●	●	●	●
Hohe Zentrifugierbeständigkeit*1	●	●	●	●	●	●
Hohe Transparenz	●	●	●	●	●	●
Präzise geformt	●	●	●	●	●	●
Chargen-Testung² (zertifiziert) für folgende Reinheitskriterien:						
Human-DNA-frei			●	●		●
DNA-frei (Human- + Bakterien-DNA-frei)						●
DNase-frei			●	●		● NEU!
RNase-frei			●	●		●
PCR-Inhibitoren-frei			●	●		● NEU!
ATP-frei						●
Pyrogen-frei (Endotoxin-frei)		● NEU!		●		●
Steril (Ph.Eur./USP)		●		●		●
Eppendorf Produkte						
Tips						
epT.I.P.S. [®] Standard + Box + Set	●					
epT.I.P.S. [®] Reloads	●		●			
epT.I.P.S. [®] Racks						●
epT.I.P.S. [®] Singles						● ³
ep Dualfilter T.I.P.S. [®]				●		
Eppendorf Combitips [®] plus	●					● ³
epT.I.P.S. [®] LoRetention	●		●	●		
epT.I.P.S. [®] Motion	●	●				
epT.I.P.S. [®] Motion Filtertips		●	●			
Tubes						
Eppendorf Safe-Lock Tubes	●		●			● ³
3810X	●		●			
DNA + Protein LoBind Tubes			●			
PCR Tubes (PCR + <i>real-time</i> PCR)			●			
Cap Strips (PCR + <i>real-time</i> PCR)			●			
Platten und Zubehör						
Deepwell Plates + Microplates		●	●			
Protein LoBind Deepwell Plates			●			
DNA LoBind Deepwell Plates			●			
Eppendorf twin.tec [®] PCR Plates (PCR + <i>real-time</i> PCR)			●			
Eppendorf twin.tec [®] <i>microbiology</i> PCR Plates						●
Heat Sealing Film + Foil			●			
PCR, Storage Films + Foils			●			
Plate Lid		●	●			
UVette [®]	●		● ⁴			

*1 Für genaue Angaben der Zentrifugationsbeständigkeiten konsultieren Sie bitte die entsprechenden Produktseiten (www.eppendorf.de).
 *2 Chargenspezifisches Zertifikat unter www.eppendorf.de/zertifikate abrufbar. *3 Einzel verpackt. *4 Zusätzlich proteinfrei (protein-free).

Abb. 1: Eppendorf Reinheitsgrade für Verbrauchsartikel im Labor

Qualität der Eppendorf Verbrauchsartikeln

Der Reinheitsgrad Eppendorf Quality, der die Grundlage aller Verbrauchsartikel von Eppendorf darstellt, verlangt die kontinuierliche Kontrolle der Qualitätskriterien Funktion, Dichtigkeit und Präzision. Während der Produktion der Produkte werden kontinuierlich Form, Maße und das Aussehen sowie die wesentlichen Funktionen streng überwacht. Sämtliche Schritte der Produktion über die Komplettierung der Ware bis hin zur Verpackung sind automatisiert (Abb. 2). Manuelle Eingriffe und alle daraus resultierenden Risiken durch Verunreinigung sind damit nahezu ausgeschlossen.



Abb. 2: Vollautomatisches Einsortieren von Combitips in die Blisterverpackung unter Reinraumbedingungen.

Der Einzug der PCR und vieler weiterer molekularbiologischer Methoden in Labore im Klinik- und Forschungsbereich erfordert neue Reinheitskriterien:

- Geringste Mengen Erbsubstanz, die für die Versuche eingesetzt werden, müssen vor abbauenden Enzymen (DNasen und RNasen) geschützt sein, d.h., die Verbrauchsartikel müssen frei von diesen Verunreinigungen sein.
- Verbrauchsartikel, die mit dem PCR-Reaktionsansatz in Berührung kommen, müssen frei von PCR-Inhibitoren sein, die eine Nachweisreaktion stören würden.
- Es muss sichergestellt sein, dass die Kunststoffartikel frei von verunreinigenden Nukleinsäuren sind. Im Wesentlichen handelt es sich um menschliche DNA, die während des Produktionsprozesses in die Artikel gelangen kann.

Der Reinheitsgrad PCR clean wird vor allem dadurch erreicht, Kontamination erst gar nicht entstehen zu lassen. Deshalb werden die entsprechenden Kunststoffartikel unter

Reinraumbedingungen gefertigt. Die Fertigungsbereiche sind räumlich getrennt und der Zugang ist nur Personal in spezieller Schutzkleidung gestattet.

Darüber hinaus sind alle Produktionsprozesse nahezu vollständig automatisiert. Als Prüfverfahren gilt die zertifizierte chargenspezifische Produkttestung auf Freiheit von Human-DNA, DNasen, RNasen und PCR-Inhibitoren durch ein unabhängiges Labor.

Um den höchsten Ansprüchen der Medizin, Pharma- und Lebensmittelindustrie genauso gerecht zu werden, wie denen der Molekularbiologie und Zelltechnologie, wurde der Reinheitsgrad Biopur definiert [1]. Alle in diesem höchsten Reinheitsgrad verfügbaren Verbrauchsartikel, also Pipettenspitzen, Spitzen für Dispenser, PCR Platten und Reaktionsgefäße, sind garantiert steril und frei von Pyrogenen, RNasen, DNasen humaner und bakterieller DNA, ATP und PCR-Inhibitoren. Dabei wird jede Charge dieser Produkte in einem unabhängigen Labor auf alle genannten Reinheitskriterien untersucht. Dies wird durch chargenspezifische Zertifikate garantiert.

Dieser höchste biologische Reinheitsgrad wird durch die sehr strenge Kontrolle aller Produktionsschritte bis zum Endprodukt und die anschließende Bestrahlung oder Begasung erreicht (Abb. 3). Garant hierfür ist ein vollautomatisierter Produktionsprozess unter Reinraumbedingungen. Die Kontamination der Verbrauchsartikel mit Mikroorganismen, Nukleinsäuren, Proteinen, Polysacchariden usw. durch Kontakt mit Menschen ist damit ausgeschlossen.



Abb. 3: Verpacken von Verbrauchsartikeln des Reinheitsgrades Eppendorf Biopur vor der Sterilisation

Literatur

[1] Eppendorf Userguide Nr. 42. www.eppendorf.de

eppendorf

Your local distributor: www.eppendorf.com/worldwide

Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH · Deutschland · Tel: +49 2232 418-0 · Fax: +49 2232 418-155 · E-mail: vertrieb@eppendorf.de

Eppendorf Austria GmbH · Österreich · Tel: +43 1 89013 64-0 · Fax: +43 1 890 13 64-20 · E-mail: office@eppendorf.at

Vaudaux-Eppendorf AG · Schweiz · Tel: +41 61 482 1414 · Fax: +41 61 482 1419 · E-mail: vaudaux@vaudaux.ch

Application Support Tel: +49 1803 666 789 (Preis je nach Tarif im Ausland; 9 ct/min aus dem dt. Festnetz; Mobilfunkhöchstpreis 42 ct/min)

E-mail: support@eppendorf.com