

Fragen zu Pipettenservice gemäß EN ISO 8655 / ÖKD

Warum sollten Pipetten regelmäßig kalibriert werden?

Jede neu produzierte Pipette wird vom Hersteller vor der Auslieferung kalibriert und entspricht damit seinen Vorgaben bezüglich Volumen, Richtigkeit und Präzision. Im Laufe der Zeit können durch natürlichen Verschleiß Undichtigkeiten, Abnutzung beweglicher Teile etc. auftreten, die zu erheblichen Fehlern beim Pipettierergebnis führen können. Pipetten, die als Prüfmittel eingesetzt werden, müssen daher in regelmäßigen Abständen geprüft werden. Durch Kalibrierung werden Richtigkeit (systematische Messabweichung) und Präzision (zufällige Messabweichung) ermittelt und ggf. durch Justage optimiert. Eventuelle Schäden werden erkannt und können durch Reparatur behoben werden.

Kalibrierung gemäß DIN EN ISO 8655: was bedeutet das?

Die Europeanorm (EN) ISO (DIN) 8655 Teil 1-6 (2000) Teil 7 (2003) ist ein internationaler Standard, der beschreibt, wie Liquid Handling-Messmittel beschaffen sein müssen und wie sie zu testen sind.

- Teil 1 Beschreibung der Begriffe
- Teil 2 Kolbenhubmesspipetten
- Teil 3-5 Büretten, Dilutoren, Dispenser
- Teil 6 gravimetrische Kalibrationsmethoden
- Teil 7 nicht-gravimetrische Testmethoden

Woher bekomme ich den Text der EN ISO 8655?

Der Text der EN ISO 8655 wird vom Verlag Beuth in Berlin (<http://www.beuth.de/>) vertrieben. Kopien dürfen wir leider nicht anfertigen.

Welche Teile der EN ISO 8655 sind relevant für die Prüfung?

Die Teile eins, zwei und sechs bilden die Grundlage für eine Pipettenprüfung. Für viele Anwender reicht es deshalb aus, diese Teile zu lesen.

Was ist ein „Typentest“?

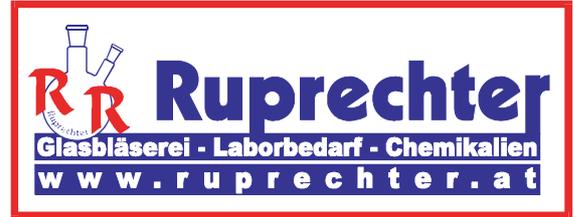
Der „Typentest“ ist ein gravimetrischer Test, der durchgeführt wird, bevor ein Messmittel am Markt eingeführt werden kann. Er beschreibt die Mindestanforderungen an die Präzision und Genauigkeit des jeweiligen Messmittels.

Kann ich eine Pipette sterilisieren?

Ob und wie eine Pipette sterilisiert werden kann, ist der Anleitung des Herstellers zu entnehmen. Bei vielen Fabrikaten lassen sich nur einzelne Teile der Pipette sterilisieren. Vorsicht: bei unsachgemäßer Handhabung kann die Pipette zerstört werden!

Was muss ich beachten, wenn ich meine Pipette selbst überprüfen will?

In jedem Fall ist es notwendig, die EN ISO 8655 genau zu beachten. Die nachfolgenden Hinweise sind nur eine Zusammenfassung der erforderlichen Schritte.



Zur Einhaltung der EN ISO 8655 werden folgende Volumina durch je 10x Pipettieren von Wasser auf eine Feinwaage überprüft:

- Das Nennvolumen
- 50% des Nennvolumens
- Das kleinste einstellbare Volumen, jedoch nicht weniger als 10% des Nennvolumens

Dieses Volumina entnehmen Sie bitte dem Bedienerhandbuch, dem Marketing-Material oder separaten Tabellen des Herstellers.

- Arbeitsraum, Arbeitsplatz, alle Geräte und Flüssigkeiten müssen gleichmäßig vortemperiert sein.
- Pipetten müssen akklimatisiert sein, d.h. mindestens 2 Stunden in dem Messraum liegen.
- Die Temperatur im Prüflabor ebenso wie die Wassertemperatur soll kontrolliert 20 °C - 25 °C betragen.
- Der Luftdruck hat Einfluss auf das Messergebnis und muss kontrolliert werden.
- Aus den gemessenen Werten der Temperatur und des Luftdrucks ist der

Dichtekorrekturfaktor für die Prüflüssigkeit zu bestimmen.

Die Korrekturfaktoren sind in der EN ISO 8655 aufgeführt.

Wie oft muss eine Pipette geprüft werden?

- Regelmäßige, z.B. wöchentliche Reinigung, visuelle Tropfkontrolle und mehrfache Testpipettierungen auf eine Waage helfen, Fehlfunktionen frühzeitig zu erkennen.
- Eine genauere Prüfung sollte je nach Nutzungsgrad zwischen vierteljährlich und jährlich liegen, der Zeitraum von einem Jahr sollte jedoch in keinem Fall überschritten werden.
- Der Anwender darf im Rahmen seiner eigenen Qualitätsanforderungen eigene Grenzen enger oder weiter setzen.

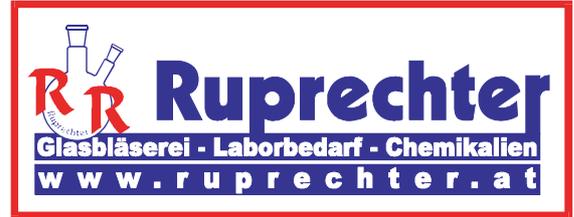
Wie beeinflusst die EN ISO 8655 die normale Laborarbeit?

Standards für Spezifikationen setzen sowohl Pipettenhersteller als auch Pipettenspitzenhersteller. Angegebene Spezifikationen sind nur gültig für die komplette Einheit. "Spitze plus Pipette" in Kombination. Die typischen Spezifikationen des Pipettenherstellers sind nur gültig und zulässig, wenn Originalpipettenspitzen benutzt werden. Werden andere Spitzen als Originalspitzen benutzt, muss Genauigkeit und Präzision der neuen Einheit. "Spitze plus Pipette" überprüft werden (gravimetrisches Verfahren, EN ISO 8655 Teil 6)

Warum sieht die vollständige Prüfung nach EN ISO 8655 so viele Messungen vor?

Die vollständige Prüfung nach EN ISO 8655 mit 30 Pipettierungen bei einer variablen 1-Kanal-Pipette und 360 Pipettierungen bei einer 12-Kanal-Pipette deckt wesentlich mehr Pipettenfehler auf, als ein Quick-Check mit nur 4 Prüfgängen. So beträgt nach einer Prüfung gemäß EN ISO 8655 die Wahrscheinlichkeit, dass die Pipette den Anforderungen entspricht, 98%. Im Falle eines Quick-Checks beträgt sie lediglich 76%.

Korrekte und nachvollziehbare Ergebnisse, wie sie mit Hilfe einer nach EN ISO 8655 geprüften Pipette erzielt werden können, sparen Zeit und Geld - vor allem beim Umgang mit teuren Reagenzien wie Taq Polymerase, Taq Buffer, dNTP oder DNA Sets oder Kits, bzw. wertvollen Proben wie Nabelschnurblut oder Biopsie-Material.



Welche praktischen Tipps helfen mir weiter?

(Gute Laborpraxis - GLP)

- Lösungen nicht aus dem Kühlschrank pipettieren
- Pipettenspitzen nur 1 – 2 mm in Flüssigkeit tauchen. Schon bei 2 µl Pipettiervolumen können bei viskosen Lösungen nach zu tiefem Eintauchen 50 – 100 µl außen anhängen
- Pipette nicht zu schräg halten (max. 30° Schräge ist zulässig)
- Pipette nicht ruckartig bewegen
- Pipettierknopf beim Aufnehmen oder Abgeben nicht ruckartig loslassen
- Viskosität und Dampfdruck der Flüssigkeit beachten

Welche Fehler kommen häufig vor und wie kann ich sie vermeiden?

„Meine neue/kalibrierte Pipette geht falsch, ich habe 1000 µl auf die Waage pipettiert und es sind nur 995 mg!“

1000 µl Wasser wiegen 1000 mg, jedoch nur bei 4 °C. Bei Labortemperaturen weicht die Dichte des Mediums erheblich davon ab. Bitte immer den Dichtekorrekturfaktor berücksichtigen!

„Obwohl ich den temperaturabhängigen Dichtefaktor berücksichtigt habe, ist das Volumen immer noch zu niedrig.“

Tipp: Bei geringer relativer Luftfeuchtigkeit ist die Verdunstung hoch. Dies kann – vor allem bei kleinen Volumina – zu erheblichen Abweichungen führen.

Auch die elektrostatische Aufladung von Waage, Pipette, Personal und vor allem Auffanggefäß führt zu starken Abweichungen.

Abhilfe: Luftfeuchtigkeit über 50% halten

„Ich habe extra die Spitze mit der Hand ganz fest gedreht und jetzt bekomme ich immer wieder verschiedene Werte!“

Tipp: Durch die Handwärme können die ersten 2-3 Pipettierwerte stark beeinflusst werden. Abhilfe: Vorgesteckte Spitzen benutzen und mindestens 5 mal vorher benetzen

Welche Faktoren beeinflussen die Genauigkeit von Messungen?

Folgende Faktoren beeinträchtigen die Genauigkeit von Pipettierung und Pipettenprüfung:

- Schlechte Passform der Spitze
- Ungerade Pipettenspitze
- Ungleichmäßige Kolbenbewegung
- Falsche Pipettiertechnik
- Fehlende Vorbenetzung der Spitze
- Unterschiedliche Temperaturen der Messmittel
- niedrige Luftfeuchtigkeit und damit Verdunstung
- Elektrostatische Aufladung
- Luftzug



- Ungenauigkeit bei der Kalibration der Prüfwaage
- Nutzungsdauer und Leitfähigkeit der Prüflüssigkeit (destilliertes Wasser)

Folgende Faktoren haben Einfluss auf die Genauigkeit von Pipettierung und Pipettenprüfung und müssen ggf. berücksichtigt werden:

- Viskosität, Dampfdruck und Oberflächenspannung des Mediums
- Pipettiermodus und Pipettiertechnik, (ggf. Vergleichsmessungen mit verschiedenen Personen)
- Unterschiede zwischen elektronischen und mechanischen Pipetten
- Rundungsdifferenzen bei der Test-Software
- Umgebungsbedingungen wie Temperatur, rel. Luftfeuchtigkeit und Luftdruck.

Diese müssen gemessen und die Messergebnisse mit Hilfe von Korrekturfaktoren umgerechnet werden

... auf das Ergebnis kommt es an ...

Akkreditiertes Kalibrierlabor:

Mit unserer **Akkreditierung als Kalibrierlabor gemäß ÖVE/ ÖNORM EN ISO/ IEC 17025:2007** können Sie sich nun auch sicher sein, dass durch kontinuierliche Prüfungen unsere Leistungen nicht nur qualitativ höchste Ansprüche erfüllen, sondern darüber hinaus auch Rückführbar sind und alle Richtlinien im internationalen Umfeld eingehalten werden. Nutzen Sie dies zur Sicherung eines maximalen Qualitätsstandards in Ihrem Unternehmen.