



ELGA  VEOLIA

# Wie Sie Wasserprobleme in Laborexperimenten beheben

Teil 2: Tipps und Tricks für Zellkulturen

Whitepaper

ELGA LabWater | Veolia Water Technologies

**WATER TECHNOLOGIES**

## Inhalt

<b>Einleitung</b> .....	<b>3</b>
<b>1. Allgemeine Tipps zur Vermeidung von Wasser-Verunreinigungen</b> .....	<b>4</b>
Good Laboratory Practice.....	4
Wie Laborwasser normalerweise gereinigt wird.....	5
Die richtige Wasserreinheit für Ihre Anwendung wählen .....	5
Fehlerbeseitigung bei empfindlichen Anwendungen.....	6
<b>2. Zellkulturen</b> .....	<b>7</b>
Probleme und Ursachen.....	7
Fehlerbeseitigung .....	9
Checkliste Zellkulturen.....	9
<b>Schlussfolgerung</b> .....	<b>10</b>
<b>Wie Sie ein geeignetes Aufbereitungssystem auswählen</b> .....	<b>10</b>
<b>Ein System, das zu Ihren Bedürfnissen passt</b> .....	<b>10</b>
<b>Kurzanleitung</b> .....	<b>11</b>
<b>Über ELGA LabWater</b> .....	<b>16</b>

## Einleitung

Zahlreiche Faktoren können die Arbeitsabläufe in Analytik- und Forschungslaboren stören. Zusätzlich zu möglichen Anlagenstörungen, Problemen mit der Reagenzienversorgung oder sogar menschlichen Fehlern müssen Sie auch noch zahlreiche Quellen für Verunreinigungen im Blick behalten. Dieses Whitepaper befasst sich mit Verunreinigungen, die im Laborwasser auftreten können. Es zeigt, wie Sie sicherstellen, dass diese unerwünschten Stoffe Ihre experimentellen Abläufe, Datenanalysen und nachfolgende Anwendungen nicht kompromittieren.



Wasser ist vielleicht das am häufigsten eingesetzte Reagenz im Labor. Ein durchschnittliches Laborgebäude verbraucht etwa 35 Millionen Liter Wasser pro Jahr. Das ist mehr als fünfmal so viel wie ein gleich großes Bürogebäude<sup>1 2</sup>. Daher ist es besonders wichtig,

die Wasserqualität in Ihrem Labor zu sorgfältig zu überwachen und zu steuern.

Verunreinigungen im Wasser können eine Reihe von Problemen verursachen und sogar dazu führen, dass Sie Ihre Proben verlieren oder dass Produkte verderben. Eine zu späte Entdeckung von Verunreinigungen kann die Genauigkeit und Validität Ihrer Daten in Frage stellen. Die Beseitigung der Probleme kann dann erhebliche zeitliche, finanzielle und personelle Aufwendungen erfordern und Sie bzw. andere Mitglieder Ihres Labors von Ihren eigentlichen Aufgaben in der Forschung und Analytik abhalten.

Mehrere Faktoren können Ihre Laborwasserversorgung verunreinigen. Dazu gehören Bakterien und ihre Nebenprodukte (z.B. Endotoxine) sowie andere Mikroorganismen und Biomoleküle, Ionen, gelöste Gase, anorganische und organische Stoffe, Partikel und degradierende Enzyme (z.B. Nukleasen und Proteasen).

Auf den folgenden Seiten geben wir einen Überblick über die besten Methoden zur Vorbeugung von Verunreinigungen in den gebräuchlichen Laboranwendungen. Dazu gehört eine Zusammenfassung der Richtlinien „Good Laboratory Practice“ (GLP) sowie der verschiedenen Verfahren zur Wasseraufbereitung. Der Schwerpunkt liegt auf Lösungen für Wasserprobleme in Zellkulturen als besonders empfindliche Anwendung, bei der die Wasserreinheit von besonderer Bedeutung ist. Wir fassen Ursachen, Probleme und Tipps zur Fehlerbeseitigung zusammen.

<sup>1</sup> European Commission (DG ENV), Juni 2009. Final Report, Study on water performance of buildings. <http://bit.ly/1iY3e0S>.

<sup>2</sup> Good Campus, „Energy and Resource Efficiency“. <http://bit.ly/1oZaHOZ>.

## 1. Allgemeine Tipps zur Vermeidung von Wasser-Verunreinigungen

Wir empfehlen die Einhaltung der Richtlinien „Good Laboratory Practice“ (GLP) in allen experimentellen Abläufen, um die Konsistenz, Verlässlichkeit, Reproduzierbarkeit, Qualität und Integrität Ihrer Forschung sicherzustellen. Wie wir später zeigen werden, können zahlreiche Fehler in Experimenten auftreten, wenn Sie Wasser in schlechter

oder nicht passender Qualität verwenden. Hier finden Sie eine kurze Zusammenfassung von allgemeingültigen Methoden, mit denen Sie Verunreinigungen aus Ihrem Laborwasser entfernen können oder mit denen Sie verhindern, dass diese Verunreinigungen überhaupt in Ihr System gelangen können:

### Good Laboratory Practice

GLP wird definiert als<sup>3</sup>:

*„Ein Qualitäts-System, das den organisatorischen Ablauf und die Bedingungen festlegt, unter denen nicht-klinische gesundheits- und umweltrelevante Sicherheitsprüfungen geplant, durchgeführt, überwacht, aufgezeichnet, archiviert und berichtet werden.“*

GLP ist eine Vorgabe für viele Industrielabore. Während sich akademische Labore meist nicht ganz so streng daran halten, bilden viele dieser Prinzipien dennoch die Grundlage für eine erfolgreiche Forschungsarbeit. Klar definierte Laborprozesse helfen, das Risiko für Kontaminationen und Fehler zu minimieren.

- Die festgelegten Prozesse sollten Protokolle und Pläne zur Reinigung Ihres Labors sowie Details zu den jeweiligen Bereichen und Anlagen
- enthalten (z.B. prä-PCR-Bereich vs. post-PCR-Bereich).
- Sie sollten die angemessene persönliche Schutzkleidung wie Laborkittel und Laborhandschuhe aufführen und hervorheben, wie wichtig eine aktuelle Dokumentation ist. Informationen wie Chargennummern können nämlich dabei helfen, die Quelle für Probleme zu identifizieren und sie künftig zu vermeiden.
- Sie sollten alle Laborsysteme regelmäßig warten und überprüfen, um Unfälle zu vermeiden.
- Und selbstverständlich sollte jeder Labormitarbeiter die Standard Operating Procedures (SOPs) für Experimente, Wartung und Reinigung kennen und befolgen.

*„Es ist wichtig, dass Sie die für Ihre Anwendung passende Wasserreinheit verwenden.“*

<sup>3</sup> Quelle: World Health Organization: <http://www.who.int/tdr/publications/>

## Wie Laborwasser normalerweise gereinigt wird

GLP leistet einen großen Beitrag zur Vermeidung von Verunreinigungen in Laboren. Zusätzliche ist es sinnvoll, die unterschiedlichen Verfahren zur Wasseraufbereitung zu kennen und zu wissen, welche Arten von Verunreinigungen sie jeweils entfernen. Dieses Wissen hilft Ihnen, das richtige Wasseraufbereitungssystem für die in Ihrem Labor

benötigten Wasserqualitäten zu wählen. Wir empfehlen die Kombination mehrerer Aufbereitungsverfahren wie Umkehrosmose, Ionenaustausch, Elektroentionisierung, UV-Photooxidation und Ultrafiltration. Details dazu finden Sie in unserem [kostenfreien Pure Labwater Guide](#).

## Die richtige Wasserreinheit für Ihre Anwendung wählen

Manche Anwendungen reagieren empfindlich auf Kontaminationen und erfordern deshalb eine höhere Wasserreinheit. Sie sollten immer sichergehen, dass die Wasserqualität, die Sie nutzen, auch für Ihre Anwendung geeignet ist. Die Wasserreinheit reicht von Typ I<sup>+</sup>-Reinstwasser mit einem spezifischen Widerstand von 18,2 MΩ cm für hoch-

sensible Experimente bis hin zu Typ III-Primärgradwasser mit einem Widerstand von >0,05 MΩ cm zur Speisung von Spülmaschinen, Autoklaven und Wasseraufbereitungssystemen. Tabelle 1 zeigt die Reinheitsparameter. Den passenden Reinheitsgrad für Ihre Laboranwendungen können Sie unserer [Infografik \(englisch\)](#) entnehmen.

Reinheitsgrad	Spezifischer Widerstand (MΩ cm)	TOC (ppb)	Bakterien (KBE/ml)	Endotoxine (EU/ml)
Typ I <sup>+</sup>	18,2	<5	<1	<0,03
Typ I	>18	<10	<10	<0,03
Typ II <sup>+</sup>	>10	<50	<10	-
Typ II	>1	<50	<100	-
Typ III	>0,05	<200	<1000	-

**Tabelle 1:** Wasserreinheitsgrade

Eine Versorgung mit Wasser in konstanter Qualität ist für Labore unerlässlich. Dafür sollten Sie ein System wählen, das Ihr Speisewasser nicht nur aufbereitet, sondern den Gehalt an Verunreinigungen überwacht und auch in Nutzungspausen aufrechterhält (z.B. PURELAB® Chorus-Anlagen von ELGA). Nur so können Sie sich darauf verlassen, wirklich immer die nötige Wasserqualität zu erhalten. Sie sollten Ihr Wasseraufbereitungssystem

regelmäßig warten und die Bevorratung von aufbereitetem Laborwasser überprüfen. Manche Vorratsbehälter können mit der Zeit unerwünschte Stoffe an das Wasser abgeben und die Menge der im Wasser gelösten Gase kann sich verändern, wenn das Wasser längere Zeit ruht. Die Vorrattanks der Chorus-Systeme nutzen beispielsweise inerte Materialien, totraumoptimiertes Design und sterile Luftfilter, um dies zu vermeiden.

## Fehlerbeseitigung bei empfindlichen Anwendungen

Wenn Sie die GLP-Richtlinien beachten, die passende Wasserreinheit für Ihre Anwendung verwenden und Ihr Wasseraufbereitungssystem regelmäßig warten, reduzieren Sie das Risiko für Verunreinigungen signifikant. Manche Anwendungen sind jedoch besonders empfindlich und erfordern eine erhöhte Achtsamkeit, dazu gehören Flüssigchromatographie, Zellkulturen und Molekularbiologie. Auf den folgenden Seiten zeigen wir, welche Verunreinigungen im Wasser bestimmte Fehler verursachen können und wie Sie diese Probleme bei der Durchführung Ihrer Experimente beseitigen und vermeiden können.

sigchromatographie, Zellkulturen und Molekularbiologie. Auf den folgenden Seiten zeigen wir, welche Verunreinigungen im Wasser bestimmte Fehler verursachen können und wie Sie diese Probleme bei der Durchführung Ihrer Experimente beseitigen und vermeiden können.



## 2. Zellkulturen

Das Anlegen von Zellkulturen beinhaltet das Züchten von Zellen außerhalb ihres natürlichen Lebensraums unter kontrollierten Bedingungen. Dies geschieht unter sterilen Bedingungen in einer Reinluft- bzw. Sicherheitswerkbank. Gelangen Verunreinigungen in die Zellkulturen, können sie unerwünschte Nebenwirkungen verursachen – etwa schlechtes Zellwachstum, das Absterben von Zellen und potenziell ungenaue Daten.

Während des Kultivierens der Zellen wird mehrfach Wasser benötigt: für die Vorberei-

tung des Mediums und der Waschlösung sowie beim Reinigen der Glaswaren. Wasser kommt darüber hinaus auch indirekt zum Einsatz, beispielsweise beim Erwärmen der Lösungen in einem Wasserbad oder in den Inkubatoren.

Im Folgenden sind einige Probleme aufgelistet, die in einer Zellkultur auftreten können, sollte verunreinigtes Wasser zum Einsatz kommen, sowie Maßnahmen, mit denen das Risiko gesenkt werden kann.



### Probleme und Ursachen

#### Problem 1: Schlechtes Zellwachstum oder Absterben der Zellen

Zu den häufigsten Problemen in Zellkulturen gehören schlechtes Zellwachstum und das Absterben von Zellen. Dadurch können Monate der Arbeit ruiniert und Fortschritte verzögert werden. Des Weiteren können unter Umständen fehlerhafte Daten generiert werden. Eine entscheidende Rolle spielt dies

vor allem, wenn es darum geht, einen Rückgang der Zellviabilität auszulösen und zu messen. Es gibt eine Vielzahl von Verunreinigungen in Wasser, die das Zellwachstum behindern, darunter Endotoxine und Metallionen.

#### *Ursache: Metallionen und ionische Verunreinigungen*

Metallionen finden sich in Wasser, das für die Zubereitung von Medien und zum Spülen der Glaswaren verwendet wird. Reinstwasser ist ein aggressives Lösungsmittel und kann toxische Metallionen aus Glaswaren, Pipetten und Spritzen sowie Weichmacher

aus Kunststoffrohren oder -gefäßen lösen. Darüber hinaus enthält der Dampf in Autoklaven oft Zusatzstoffe, um die Kalkablagerung zu reduzieren. Diese Zusatzstoffe können letztendlich auf die Glaswaren und somit in die Zellkulturen gelangen.

#### *Ursache: Endotoxine*

Endotoxine sind Pyrogene aus der äußeren Membran gramnegativer Bakterien. Sie können über Wasser, Seren und andere Zusatzstoffe in die Zellkulturen gelangen. Endotoxine können eine starke Immunreaktion auslösen und sind biologisch hochreaktiv.

Entsprechend können sie das Wachstum der Zellkultur beeinflussen und zu Schwankungen des Experiments führen. Falls Sie eine Verunreinigung befürchten, sollten Sie einen Limulus-Amöbozyten-Lysat (LAL)-Test durchführen.

### **Problem 2: Verunreinigte Zellkulturen**

Verunreinigungen wie Bakterien, Schimmelpilze, Hefen und Pilze können alle über das Wasser in die Zellkulturen gelangen. Einige davon sind mit dem bloßen Auge sichtbar.

Andere bleiben selbst unter dem Mikroskop unentdeckt. Daher empfiehlt es sich, die Zellkulturen regelmäßig zu kontrollieren.

#### *Ursache: Bakterien, Schimmelpilze und Hefen*

Biologische Verunreinigungen finden sich überall, natürlich auch in Wasser. Sobald sie in eine Zellkultur gelangen, finden sie ideale Wachstumsbedingungen und die von ihnen verursachten Probleme können schnell aus dem Ruder laufen. Oft verursachen sie Änderungen an der Trübung oder dem pH-Wert. Bei letzterem ändert sich die Farbe der Zell-

kultur von rot zu gelb (sofern das Medium Phenolrot als Indikator enthält). Es sind aber nicht alle Änderungen so leicht zu erkennen. Einige Verunreinigungen, beispielsweise mit Mykoplasmen, sind schwer zu entdecken, insbesondere wenn es sich um langsam wachsende Organismen handelt.

#### *Ursache: Sporenbildende Pilze*

In vielen Laboren werden Wasserbäder verwendet, um Reagenzien wie Seren für Zellkulturen aufzutauen oder um Medien vor dem Hinzufügen zu den Zellen zu temperieren. Wasserschalen helfen dabei, ein feuchtes Klima im Inkubator zu schaffen. Ist das

Wasser, mit denen die Wasserbäder und Schalen befüllt werden, jedoch verunreinigt, können sporenbildende Pilze über die Lüfter der Inkubatoren und über die Reinluft- bzw. Sicherheitswerkbänke verbreitet werden.

## Fehlerbeseitigung

Biologische Verunreinigungen können sich über einen längeren Zeitraum halten. Es empfiehlt sich daher, das Wasser und die Zellen regelmäßig zu kontrollieren, um zu vermeiden, dass derartige Verunreinigungen Ihre Experimente beeinträchtigen. Biologische Verunreinigungen lassen sich durch verschiedene Verfahren nachweisen, darunter die Erstellung von Karyogrammen, Elektrophorese, Prüfung der Trübheit, immunologische Tests und DNA-Fingerprinting.

Es ist sinnvoll, Aufzeichnungen zu den Geräten, Lösungen, Medien und Betriebsstoffen zu führen, weil dies gegebenenfalls bei der Suche nach der Ursache von Problemen hilfreich sein kann. Zudem sollten alle neuen Reagenzien, Medien, Seren und Wasser getestet und die Inkubatoren, Werkbänke, Wasserbäder und Wasseraufbereitungssysteme regelmäßig kontrolliert werden.

Durch die Schaffung steriler Bedingungen und eine regelmäßige Reinigung kann die

Wahrscheinlichkeit einer Verunreinigung der Zellkulturen drastisch gesenkt werden. Stellen Sie sicher, dass zum Auffüllen des Inkubators ausschließlich steriles Wasser verwendet wird und versuchen Sie, sofern möglich, ganz auf Wasserbäder zu verzichten. Bei dem Entfernen von Verunreinigungen können Autoklaven und Antibiotika zum Einsatz kommen, obwohl diese andere unerwünschte Auswirkungen auf Ihre Experimente haben können.

Die Wasserreinheit spielt eine entscheidende Rolle bei der Frage, ob Ihre Zellkulturen erfolgreich gezüchtet werden können. Deshalb empfehlen wir Ihnen, Reinstwasser des Typs I<sup>+</sup> zu verwenden. Um eine gleichbleibende Wasserqualität zu erzielen, müssen die Wasseraufbereitungssysteme regelmäßig gewartet und Verbrauchsmaterialien in den empfohlenen Intervallen ausgetauscht werden. Dies ist besonders bei Ionenaustauscherharzen wichtig, da diese Bakterien enthalten können, die Endotoxine produzieren.

### Checkliste Zellkulturen

- ✓ Verwenden Sie Typ I<sup>+</sup>-Reinstwasser.
- ✓ Kontrollieren Sie die Wasserqualität.
- ✓ Dokumentieren Sie.
- ✓ Testen Sie neue Reagenzien.
- ✓ Reinigen Sie die Inkubatoren und verwenden Sie steriles Wasser.
- ✓ Reinigen Sie Wasserbäder oder verzichten Sie ganz darauf, wann immer möglich.
- ✓ Verwenden Sie frisch aufbereitetes Wasser anstelle von abgefülltem / gelagertem Wasser.
- ✓ Wechseln Sie Verbrauchsmaterialien in den empfohlenen Intervallen.

## Schlussfolgerung

Wie bereits erörtert, können Wasserverunreinigungen Ihre Arbeit beeinflussen, insbesondere wenn es um empfindliche Anwendungen geht. Bei der Auslegung und Durchführung Ihrer Experimente sollten Sie deshalb stets auf eine optimale Wasserreinheit achten. Sie sollten die regelmäßige Wartung ihres Wasseraufbereitungssystems

sicherstellen, die eingesetzten Reagenzien und deren Verwendung dokumentieren und den Reinheitsgrad des Wassers sowie den turnusmäßigen Wechsel der Verbrauchsmaterialien kontrollieren. Auf diese Weise können Sie sicher sein, dass Sie korrekte Daten generieren.

## Wie Sie ein geeignetes Aufbereitungssystem auswählen

Sie möchten künftig anstelle von Flaschenwasser frisch erzeugtes Reinstwasser verwenden oder Ihre alte Wasseraufbereitungsanlage ersetzen? Unser kostenfreier [Leitfaden mit Checkliste](#) erläutert die Kriterien, die Sie bei der Auswahl einer optimalen Anlage für Ihre spezifischen Anforderungen beachten sollten.



## Ein System, das zu Ihren Bedürfnissen passt



ELGA bietet unterschiedliche Systeme zur Laborwasser-Aufbereitung, die Ihnen zuverlässig den jeweils benötigten Reinheitsgrad liefern. Die Anlagen sind platzsparend, besonders wirtschaftlich im Betrieb und können aus verschiedenen Modulen flexibel auf Ihre aktuellen oder später auf künftige Bedürfnisse zugeschnitten werden. Mit unserem **Anlagen-Konfigurator** können Sie sich ganz einfach ein für Sie ideales System virtuell zusammenstellen. Ausprobieren unter:

<http://buildyourchorus.elgalabwater.com/de>

## Kurzanleitung

Problem	Mögliche Ursachen im Wasser	Lösungen
<b>Zellkulturen</b>		
<b>Schlechtes Zellwachstum oder Absterben der Zellen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Metallionen &amp; Verunreinigungen</li> <li>• Endotoxine</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Verwenden Sie Reinstwasser des Typs I<sup>+</sup>.</li> <li>• Kontrollieren Sie das Wasser und die Zellen auf biologische Verunreinigungen.</li> <li>• Führen Sie Aufzeichnungen zu den Reagenzien, Geräten, der Reinigung usw.</li> </ul>
<b>Verunreinigte Zellkulturen (z.B. Veränderungen in Trübung, Farbe usw.)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bakterien</li> <li>• Pilze</li> <li>• Hefen</li> <li>• Schimmelpilze</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Schaffen Sie sterile Bedingungen.</li> <li>• Stellen Sie die Wasserreinheit für Medien und Lösungen sowie Wasserbäder, Inkubatoren und Autoklaven sicher.</li> <li>• Reinigen Sie Inkubatoren und Wasserbäder regelmäßig.</li> <li>• Verwenden Sie frisch aufbereitetes Wasser anstelle von abgefülltem/gelagertem Wasser.</li> <li>• Wechseln Sie Verbrauchsmaterialien wie empfohlen.</li> <li>• Zum Entfernen von Verunreinigungen eignen sich Autoklaven und Antibiotika.</li> </ul>

*\* Bitte beachten Sie: Diese Tabelle zeigt Fehler in Experimenten, die durch Verunreinigungen im Wasser entstehen können. Diese Probleme können jedoch nicht nur durch Wasser verursacht werden, sondern auch aus anderen Quellen resultieren.*

## Über ELGA LabWater

ELGA LabWater ist seit 80 Jahren spezialisiert auf die Entwicklung und Herstellung von Rein- und Reinstwassersystemen für den Einsatz in Laboren, der Forschung, der klinischen Diagnostik und im medizinischen Bereich.

ELGA gehört zu Veolia, dem weltweit führenden Anbieter für nachhaltige Lösungen in den Bereichen Wasser-, Abfall- und Energiemanagement.

Wir unterstützen unsere Kunden bei der Auslegung und Planung ihrer Anlage, übernehmen die Installation und bieten ein deutschlandweites Netz aus spezialisierten Servicetechnikern sowie eine kostenfreie Service-Hotline.

Wenn Sie mehr erfahren wollen oder eine Beratung wünschen, kontaktieren Sie uns gern!

### ELGA LabWater in Deutschland

Veolia Water Technologies Deutschland GmbH | Lückenweg 5 | 29227 Celle  
Tel: +49 (0)5141 803 301 | [vertrieb.vwt.de@veolia.com](mailto:vertrieb.vwt.de@veolia.com) | [www.elgalabwater.de](http://www.elgalabwater.de)