

# Entfernen von Endotoxinen mit Endfiltern

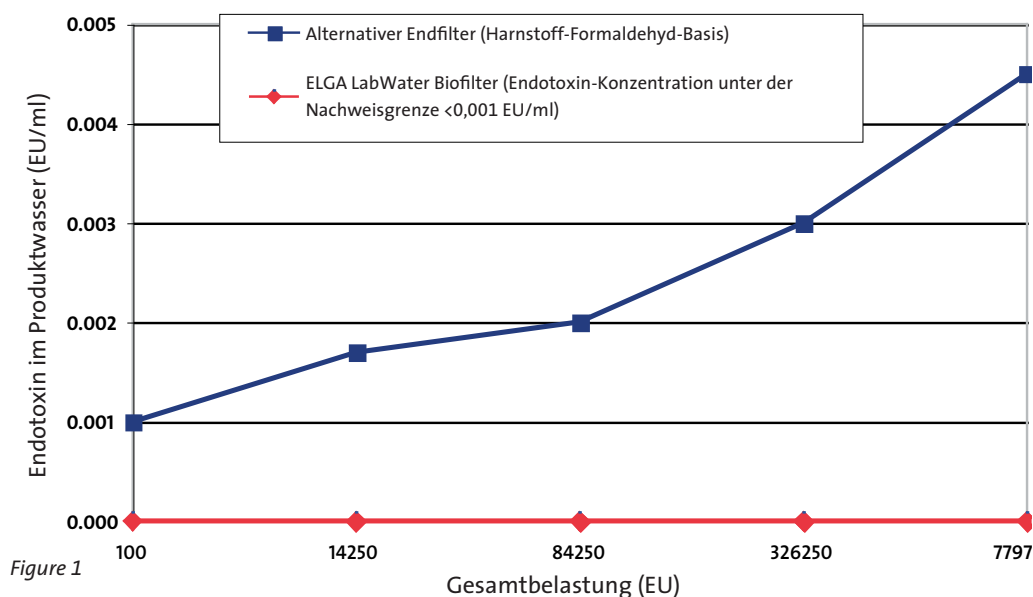
Endotoxine sind Lipopolysaccharide (LPS), die aus der äußeren Zellmembran gramnegativer Bakterien abgegeben werden. Sie werden freigesetzt, wenn die Bakterienzelle abstirbt. Endotoxine interagieren mit Zellen und verursachen zahlreiche schädliche Einflüsse (Lit. 1. Dawson und Lit. 2. Nagano). Anwendungen wie In-vitro-Fertilisation (Lit. 3. Dumoulin) und Zellkulturen (Lit. 4. Stacey) sind besonders gefährdet. Durch die Beseitigung von Endotoxinen werden Experimente, die Zellteilung, Elektrophorese und weitere biochemische Verfahren involvieren, zuverlässiger.

Endotoxine sind negativ geladen bei einem pH-Wert >2 und können durch positiv geladene Filter wie den ELGA Biofilter wirksam entfernt werden. Geladene Filter behindern den Wasserfluss nur minimal und sind die bevorzugte Option für den Einsatz direkt an der Entnahmestelle, wenn sie als letzte Stufe in einer Reihe von Reinigungsverfahren angewendet werden.



Die physikalische Barriere eines Ultrafilters (UF) kann den Fluss beeinträchtigen, es sei denn, sie verfügt über eine große Oberfläche (wie bei Inline-Anwendungen). Wo eine übermäßige Größe nicht akzeptabel ist, wie bei Modulen an der Entnahmestelle (Point-of-Use = POU), sind Kompromisse in Bezug auf die Leistung unumgänglich. Zudem wirken Ultrafilter nicht absolut und lassen einige größere Moleküle passieren. Statt sich allein auf eine einzelne Ultrafiltration am Entnahmepunkt zu verlassen, erscheint der Ansatz eines Gesamtsystems effektiver. Dies bietet den Vorteil einer Kombination von Technologien wie Ionenaustausch, UV-Photooxidation, UF und chemischer Desinfektion.

## Endotoxin-Belastungstest mit ELGA® Biofilter und alternativem Endfilter (auf Harnstoff-Formaldehyd-Basis)



# TECHNOLOGIE-NACHRICHT 31

Beide Endfilter wurden durch ständiges Beaufschlagen hoher Endotoxinkonzentrationen im Zulaufwasser der Filter belastet. Die Konzentration von Endotoxin im Produktwasser wurde anschließend mittels des Limulus-Amoebocyte-Lysate-Tests (Typ kinetischer turbidimetrischer Assay) gemessen

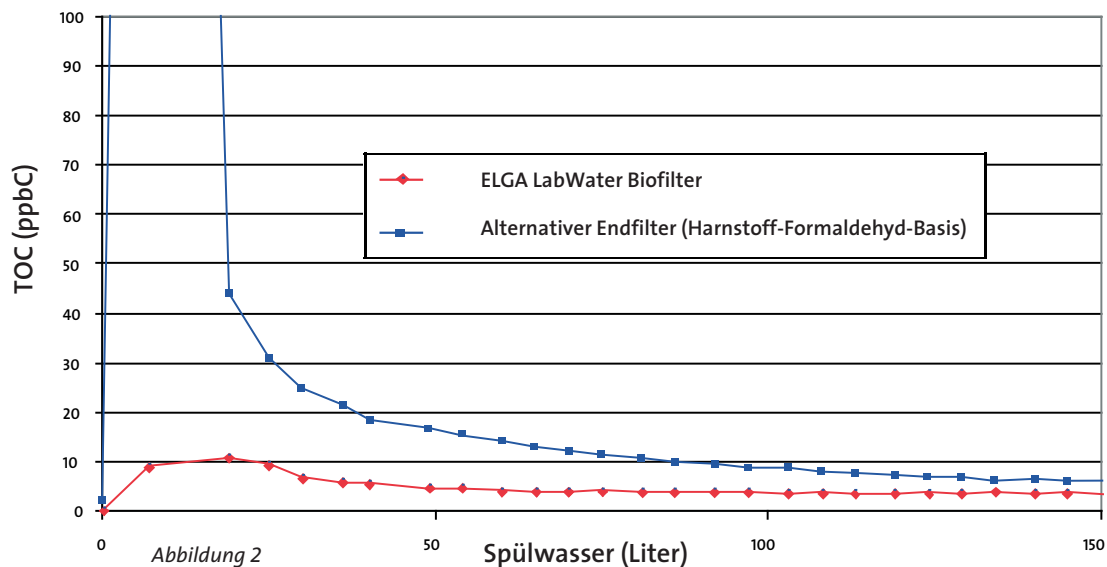
Die meisten Endotoxin-Belastungstests sind auf gereinigte Lipopolysaccharide (LPS) angewiesen. Das Forschungsteam bei ELGA stellte seine eigenen LPS aus bereits im gereinigten Wasser vorhandenen Bakterien her. Damit wurde eine realistische Umgebung für den Belastungstest imitiert. Zunächst wurden die Bakterien aus dem gereinigten Wasser isoliert. Die Mikroorganismen wurden in Peptonwasser inokuliert und anschließend bei 27°C inkubiert. Das Produkt wurde wiederholt autoklaviert und mittels einer 0,45 µm Filtermembran gefiltert. So wurden konzentrierte Endotoxine gewonnen.

Jeder Test dauerte 5 Minuten (siehe Gesamttestwerte in Abbildung 1). Selbst bei mehr als 90 EU/ml und einer

Gesamtbelastung von beinahe 800.000 EU konnte kein Endotoxin (<0,001 EU/ml) im Produktwasser nach dem Biofilter nachgewiesen werden. Dies entspricht einem Keimreduktionsfaktor von >log 5.

Am Entnahmepunkt eingesetzte Filtermodule entfernen Endotoxine aus dem Produktwasser der Anlage und dürfen das Wasser nicht kontaminieren. Bei neuen Filtern, die das erste Mal eingesetzt werden, ist das schnelle Ausspülen von Substanzen, die die Leitfähigkeit und den TOC-Gehalt beeinflussen sehr vorteilhaft und ein guter Indikator für einen dauerhaft minimalen Kontaminationseintrag in das Produktwasser. Dies ist entscheidend, da die Wasserreinheit nach dem Filter nicht kontrolliert werden kann. Das schnelle Ausspülen des Biofilters von TOC ist in Abbildung 2 dargestellt. Das Herausspülen des TOC-Gehalts ist effizienter als ein auf Ultrafiltration basierender alternativer Endfilter.

## Herausspülen von TOC beim Biofilter & alternativer Endfilter (Harnstoff-Formaldehyd-Basis)



Die Beseitigung einer Endotoxinkontaminierung erfordert eine Kombination aus effektiver bakterieller Kontrolle über UV-Photooxidation, chemische Desinfektion und optimale Inline-Filtration an der Entnahmestelle. Positiv geladene Filter bieten das ideale Mittel zum Entfernen der letzten Spuren von Endotoxin aus Reinstwassersystemen. Der Einsatz eines positiv geladenen Biofilters wird dringend empfohlen und verursacht Kontaminationseinträge, die zu vernachlässigen sind.

## Literatur

Ref 1: Dawson ME (1998) LAL update. Associates of Cape Cod; Vol. 16: 1-4

Ref 2: Nagano M, Takahashi Y, Katagiri S (1999) J. Reprod. Dev.; 45: 239-242

Ref 3: Dumoulin JC, Menheere PP, Evers JL (1991) Human Reproduction; 6: 730-734

Ref 4: Stacey G (2007) in Medicines from Animal Cell Culture. Stacey G, Davis J. John Wiley & Sons, Chichester, Chapter 31

## Labtec Services AG

Nordstrasse 9

CH-5612 Villmergen

T +41 56 619 89 19

F +41 56 619 89 18

info@labtec-services.ch

www.labtec-services.ch