

## Die Entfernung von Endotoxinen, RNase, DNase und Bakterien durch PURELAB Option-Q mit Biofilter

### Leistungsmerkmale des ELGA Biofilters mit einer PURELAB Option-Q

#### Spezifikation

- Endotoxine <0,001 EU/ml
- RNase <0,002 ng/ml
- DNase <20 pg/ml (<0,02 pg/µl)
- Bakterien <10 KBE /100ml (<0,1 KBE/ml)

Das PURELAB Option-Q System produziert ultrareines Wasser direkt aus Trinkwasser. Wird das System darüber hinaus mit einem speziellen Biofilter von ELGA LabWater ausgestattet, wird eine Wasserqualität erreicht, die frei von biologisch aktiven Verunreinigungen ist.

Das aufbereitete Wasser ist dadurch für biochemische Anwendungen wie beispielsweise Zellkulturen geeignet.

#### Endotoxine

Endotoxine sind Lipopolysaccharide (LPS), die aus der äußeren Zellmembran lebensfähiger gramnegativer Bakterien abgegeben werden. Sie werden freigesetzt, wenn die Bakterienzelle abstirbt.

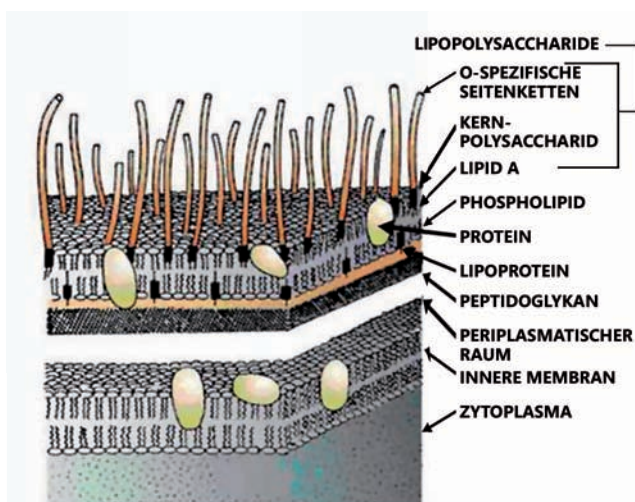
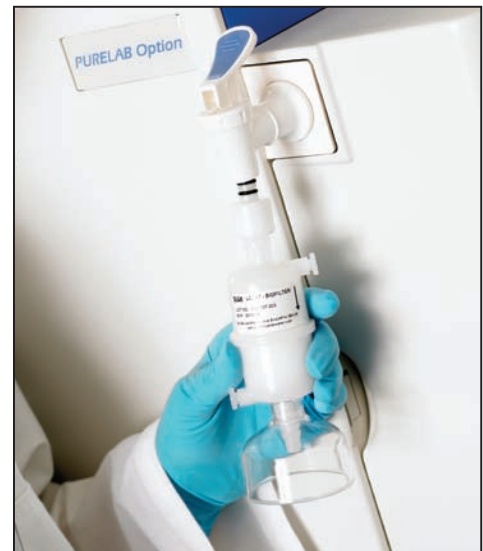


DIAGRAMM EINER GRAM-NEGATIVEN ZELLMEMBRAN

Endotoxine interagieren mit Zellen und sind Verursacher von schädlichen Wirkungen (Lit. 1. Dawson und Lit. 2. Nagano). Dabei handelt es sich bei den Anwendungen wie In-vitro-Fertilisation (Lit. 3. Dumoulin) und Zellkulturen (Lit. 4. Stacey) um äußerst kritische Bereiche.

Durch die Beseitigung von Endotoxinen werden biochemische Störfaktoren verringert und Experimente (z. B. Elektrophorese) sicherer.

Endotoxine sind ab einem pH-Wert >2 negativ geladen und können durch positiv geladene Filter - wie dem ELGA LabWater Biofilter - wirksam entfernt werden. Geladene Filter bieten eine minimale Verringerung des Wasserflusses.

Als letzte Aufbereitungsstufe sind die Filter 1. Wahl bei Point-of-Use-Anwendungen.

# TECHNOLOGIENACHRICHT 8

## Herausforderung Endotoxine

Der Biofilter wurde durch ständiges Zufügen hoher Konzentrationen an Endotoxinen im Wasser zu einem positiv geladenen Filter geführt. Die Konzentration von Endotoxinen wurde anschließend im Produktwasser mittels eines Limulus-Amoebocyten-Lysat-Test (Typ kinetischer turbidimetrischer Assay) gemessen.

Die meisten Endotoxintests sind auf gereinigte Lipopolysaccharide (LPS) angewiesen. Das Forschungsteam bei ELGA LabWater stellte seine eigenen LPS mit bereits vorhandenen Bakterien im aufbereiteten Wasser her. Diese Vorgehensweise stellte eine realistische Umgebung für den Endotoxintest dar.

Zunächst wurden die Bakterien aus dem aufbereiteten Wasser isoliert. Die Mikroorganismen wurden in Peptonwasser inokuliert und anschließend bei 27 °C inkubiert. Das Produkt wurde wiederholt autoklaviert und mittels einer 0,45µm Filtermembran gefiltert. So wurden konzentrierte Endotoxine erhalten.

Jeder Endotoxintest dauerte 5 Minuten und hatte die unten aufgeführten Gesamttestwerte zum Ergebnis. Selbst bei mehr als 90 EU/ml und einer Gesamtbeladung von beinahe 800.000 EU konnten keine Endotoxine (<0.001 EU/ml) im Produktwasser nachgewiesen werden.

Endotoxintest (EU/ml)	0.02	2.83	14.00	48.40	90.70
Gesamt-Endotoxintest (EU)	100	14250	84250	326250	779750
Nach Biofilter (EU/ml)	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Keimreduktionsfaktor	>1.3	>3.5	>4.1	>4.7	>5.0

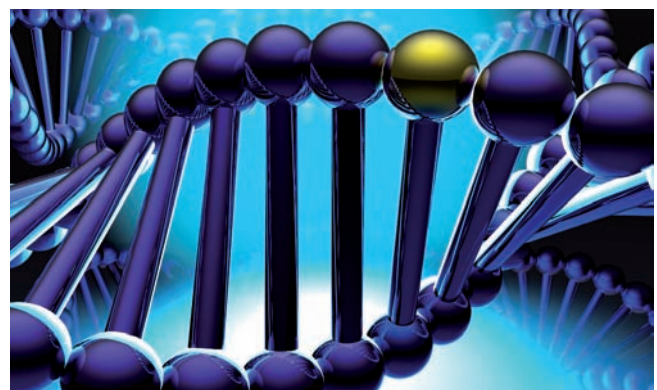
In der Praxis wird die Konzentration von Endotoxinen im Speisewasser zum Filter sehr niedrig sein (<0,1 EU/ml). Um diese Bedingungen zu imitieren, wurde der Filter dann über einen längeren Zeitraum mit einer nominellen Einspeisung von 1 EU/ml getestet. Nach dem Durchlauf von 800 Litern Wasser mit 1 EU/ml lag der Wert für Endotoxine unter der Nachweisgrenze (<0,001 EU/ml).

## DNase and RNase

Bedenken gab es in Bezug auf das mögliche Vorliegen anderer biologisch aktiver Spezies wie RNase und DNase im aufbereiteten Wasser.

Das Vorkommen dieser Spezies kann im Wasser zu schweren Beeinträchtigungen führen. Diese werden jedoch durch Ionenaustauschmedien und oxidierende UV-Bestrahlung entfernt. Bei richtig konzipierten, ordnungsgemäß sanitisierten und gewarteten Wasseraufbereitungssystemen werden diese Moleküle nicht gefunden.

Anwendungsoptimierte Vorschriften des Ambion® Alert-Testverfahrens wurden auf Basis von schneidbaren, fluoreszenzmarkierter RNase- bzw. DNase-Substraten zum Nachweis verwendet. Die Testergebnisse zeigen Nachweise für RNase von nicht mehr als <0,002 ng/ml und für DNase von <20 pg/ml. Selbst bei diesen Werten war das von dem mit einem Biofilter ausgestatteten Option-Q System produzierte Reinstwasser effektiv RNase- und DNase-frei (RNase <0,002 ng/ml, DNase <0,02 ng/ml). Auf diesem Niveau kann aufbereitetes Wasser mit einem Biofilter ausgestatteten Option-Q System verwendet werden statt



mit Diethylpyrocarbonat (DEPC) behandeltem Wasser (das gemäß Empfehlungen von ELGA LabWater regelmäßig sterilisiert und gewartet werden muss).

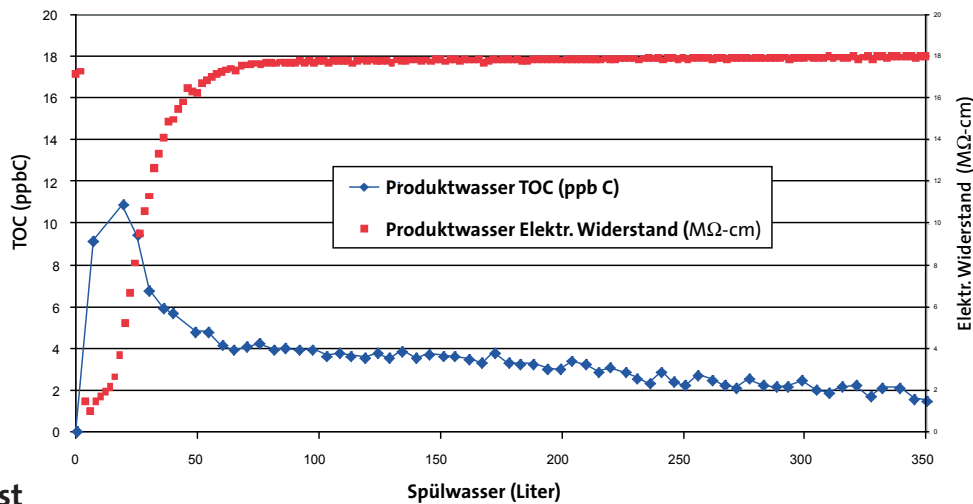
Für weitere Testzwecke wurde der Vorratsbehälter der Option-Q mit 1 mg/l RNase A und DNase befüllt, um einen Faktor von >500.000 oberhalb der Nachweisgrenze zu erreichen. Das Produktwasser war effektiv RNase- und DNase-frei (RNase <0,002 ng/ml, DNase <0,02 ng/ml).

## Herausspülen von anorganischen Stoffen und TOC

Neben der Entfernung von Endotoxinen im Produktwasser dürfen Point-of-Use-Geräte das Wasser nicht kontaminieren. Das schnelle Herausspülen von anorganischen (Elektrischer Widerstand) und organischen Stoffen (TOC), bei Filtern die das erste Mal verwendet werden, stellt sich

als sehr zweckmäßig dar. Darüber hinaus bietet sich hiermit eine gute Indikation für einen sehr geringen Kontaminationseintrag in das Produktwasser. Dies ist von entscheidender Bedeutung, da die Wasserreinheit nicht nach dem Filter kontrolliert werden kann. Das schnelle Herausspülen anorganischer und organischer Stoffe durch den ELGA - Biofilters ist nachstehend dargestellt.

### Biofilter zum Herausspülen von anorganischen Stoffen und TOC

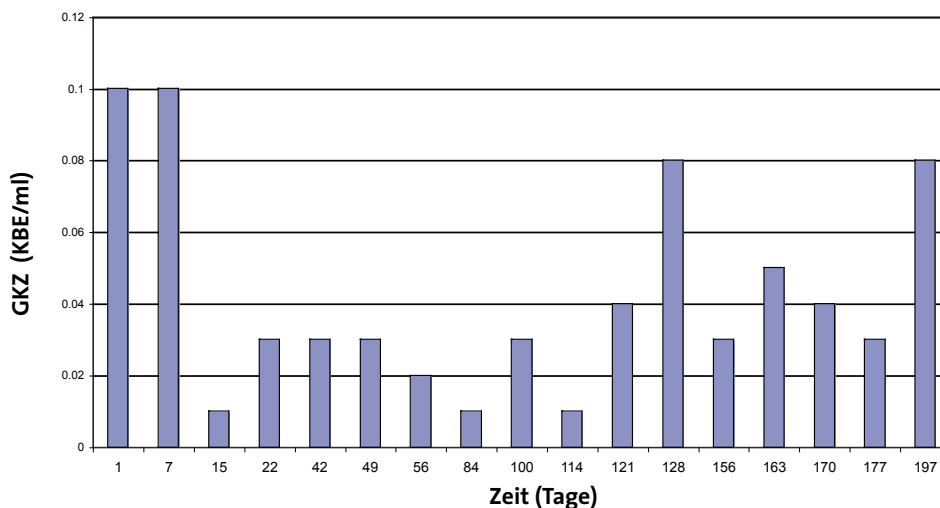


## Bakterientest

Innerhalb des Option-Q Systems wird die Bakterienkonzentration durch Umkehrosmose, anschließende Rezirkulation und UV-Bestrahlung bei 254 und 185 nm äußerst niedrig gehalten. Die zwangsläufige Bildung eines Biofilms wird durch eine regelmäßige Desinfektion reduziert. Letzte Spuren von Bakterien werden durch den Biofilter mit einer Porenweite von 0,2 µm entfernt. Selbst bei einem Eingangswasser von  $10^7$  KBE/ml entfernt der Biofilter vollständig alle Bakterien, was einem Keimreduktionsfaktor von  $10^8$  entspricht.

Die typischen Werte (Gesamtkeimzahl - GKZ) eines Option-Q Systems mit Biofilter über einen Zeitraum von 6 Monaten sind in nachstehender Grafik aufgeführt.

### GKZ von einem Option-Q mit Biofilter



# TECHNOLOGIENACHRICHT 8

## Zusammenfassung

Ein mit einem ELGA - Biofilter ausgestattetes Option-Q System produziert auf sehr effektive Weise Reinstwasser, welches frei von biologisch aktiven Verunreinigungen ist. Das System ist für Anwendungen geeignet, bei denen Endotoxinfreies Reinstwasser, bakterienfreies Wasser und Nuklease-freies Reinstwasser erforderlich ist.

## 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

ELGA LabWater

### Labtec Services AG

Nordstrasse 9

CH-5612 Villmergen

T +41 56 619 89 19 [info@labtec-services.ch](mailto:info@labtec-services.ch)

F +41 56 619 89 18 [www.labtec-services.ch](http://www.labtec-services.ch)

