

Élimination des endotoxines à l'aide de filtres au point d'utilisation

Les endotoxines sont des lipopolysaccharides (LPS) issus de la membrane externe des bactéries gram-négatives. Elles se libèrent lorsque la cellule bactérienne meurt. Les endotoxines interagissent avec les cellules en provoquant un large éventail d'effets nuisibles (réf. 1. Dawson et réf. 2. Nagano). D'autres applications telles que la fécondation in vitro (réf. 3. Dumoulin) et les cultures cellulaires (réf. 4. Stacey) y sont très vulnérables. Les expériences impliquant la division cellulaire, l'électrophorèse et autres procédés biochimiques gagnent en fiabilité à l'élimination des endotoxines.

Les endotoxines présentent des charges négatives à pH >2 et peuvent être efficacement retenues par des filtres chargés positivement tels que le Biofiltre ELGA LabWater. Les filtres chargés créent un obstacle minime à l'écoulement de l'eau et sont à retenir de préférence pour les applications au point d'utilisation où on les utilise comme stade final de toute une série de techniques de purification.



La barrière physique employée dans un ultrafiltre (UF) peut restreindre l'écoulement à moins qu'elle ne dispose d'une grande surface (comme dans les applications en ligne). Sinon, lorsqu'il n'est pas possible d'avoir recours à de grandes dimensions, comme dans les dispositifs au point d'utilisation (PDU), elle induit un certain compromis sur les performances. Ces ultrafiltres ne sont pas absolus et laissent passer certaines grandes molécules. Plutôt que de se fier exclusivement à une ultrafiltration unique au point d'utilisation, une approche totale du système est plus efficace. Elle a pour avantage de conjuguer des technologies telles que l'échange d'ions, les UV, l'UF et la désinfection chimique.

Mise à l'épreuve aux endotoxines du Biofiltre ELGA et d'un autre filtre (sur le principe de l'UF) au point d'utilisation

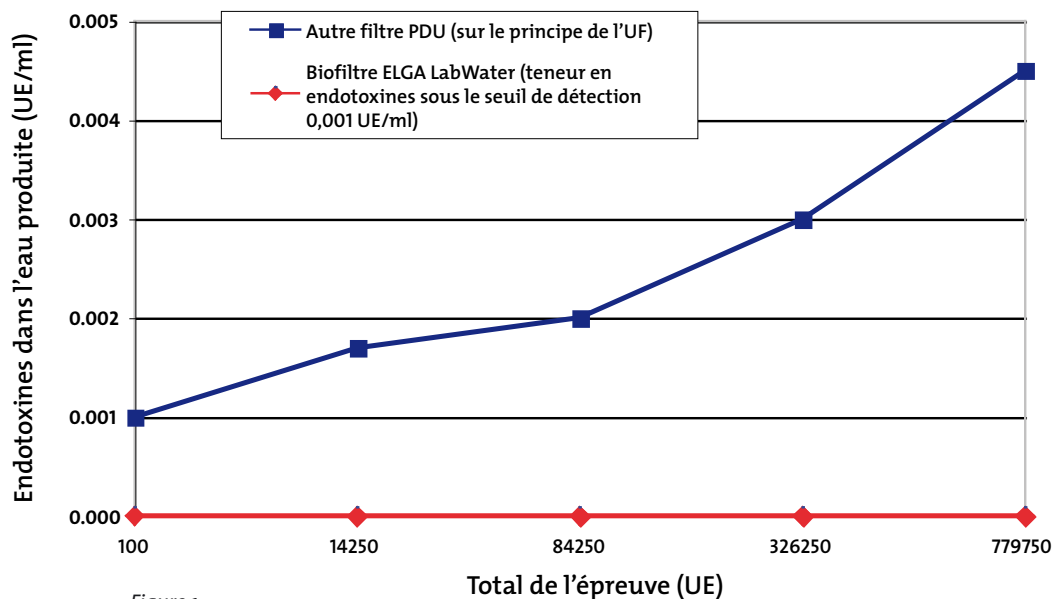


Figure 1

Les deux filtres au point d'utilisation ont été mis à l'épreuve par un apport continu de teneurs élevées d'endotoxines dans l'eau envoyée aux filtres. La concentration en endotoxines a ensuite été mesurée dans l'eau produite à l'aide du test sur lysat d'amibocytes de limule (analyse cinétique turbidimétrique).

La plupart des doses d'épreuve d'endotoxines dépendent de LPS purifiés. L'équipe de recherche d'ELGA LabWater produit ses propres LPS à partir des bactéries déjà présentes dans l'eau purifiée. Ceci dans le but d'imiter un environnement de mise à l'épreuve réaliste. Au départ, les bactéries présentes dans l'eau purifiée sont isolées. Les microorganismes sont inoculés dans une eau peptonée puis étuvés à 27 °C. Le produit est autoclavé à plusieurs reprises et filtré à l'aide d'une membrane filtrante de 0,45µm, ce qui permet d'obtenir un concentré d'endotoxines.

Chaque épreuve, d'une durée de 5 minutes, a permis

d'obtenir les valeurs d'épreuve totale données à la figure 1. Même à plus de 90 UE/ml et avec une charge totale de près de 800 000 UE, aucune endotoxine (<0,001 UE/ml) n'a pu être détectée dans l'eau produite sortant du Biofiltre. Ceci équivaut à une réduction logarithmique >5.

Tout en éliminant les éventuelles endotoxines dans l'eau produite par l'appareil, ces dispositifs au point d'utilisation ne doivent pas contaminer l'eau. Le rinçage rapide de la résistivité et du COT (carbone organique total) des filtres neufs lors de leur première utilisation est un grand avantage pour l'utilisateur et constitue une bonne indication d'une contribution minimale sur la durée à la contamination de l'eau produite. Il s'agit d'un point crucial car il est impossible d'assurer le contrôle continu de la pureté de l'eau après le filtre. Le rinçage rapide du Biofiltre en termes de COT est représenté ci-dessous. Le rinçage du COT est plus efficace qu'avec l'autre filtre au point d'utilisation basé sur le principe de l'ultrafiltration.

Rinçage du COT du Biofiltre et de l'autre filtre PDU (sur le principe de l'UF)

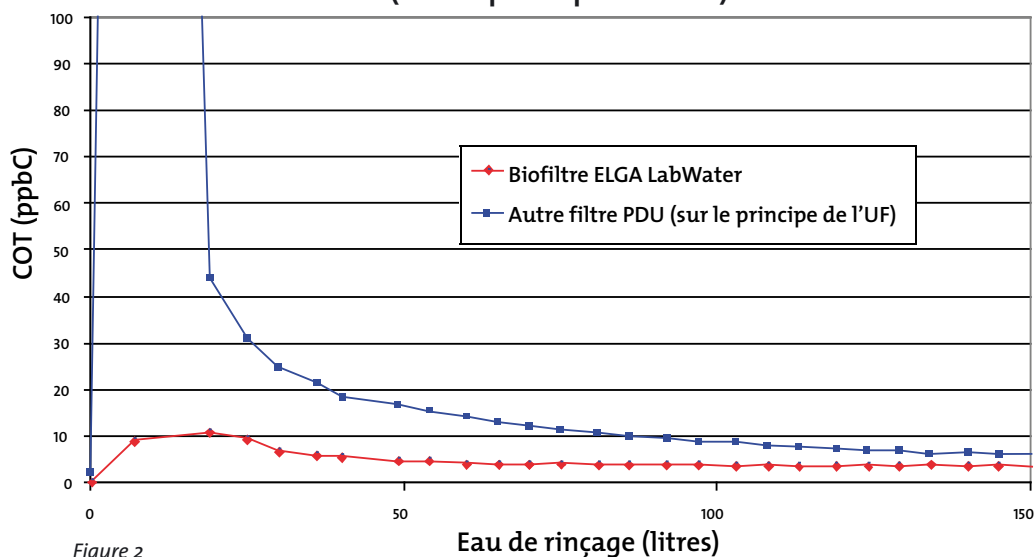


Figure 2

L'élimination de la contamination par les endotoxines requiert une combinaison de techniques de lutte antibactérienne efficaces par UV, désinfection chimique et filtration en ligne optimale au PDU. Les filtres chargés positivement procurent le moyen idéal d'éliminer les traces finales d'endotoxines des systèmes d'eau ultrapure. L'utilisation du Biofiltre en tant que filtre chargé positivement est hautement recommandée. Elle procure une contribution négligeable à la contamination.

Références

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, Chapitre 31

Pour en savoir plus ou pour commander votre exemplaire du guide Pure LabWater, connectez-vous sur www.elgalabwater.com