

Entfernen von Endotoxin mit Point-of-Use-Filtern

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 sind Verursacher einer großen Zahl schädlicher Wirkungen (Lit. 1. Dawson und Lit. 2. Nagano). Andere Anwendungen wie In-vitro-Fertilisation (Lit. 3. Dumoulin) und Zellkultur (Lit. 4. Stacey) sind sehr gefährdet. Verlässliche Experimente, die Zellteilung, Elektrophorese und weitere biochemische Verfahren involvieren, profitieren alle von der Beseitigung von Endotoxinen.

Endotoxine sind negativ geladen bei einem pH-Wert >2 und können durch positiv geladene Filter wie den ELGA LabWater-Biofilter wirksam entfernt werden. Geladene Filter bieten eine minimale Obstruktion des Wasserflusses und stellen die bevorzugte Option für eine Point-of-Use-Anwendung vor Ort dar, wenn sie als letzte Stufe einer ganzen Reihe von Reinigungsverfahren angewendet werden.



Das in einem Ultrafilter (UF) eingesetzte physikalische Hindernis kann den Fluss einschränken, sofern keine große Oberfläche besteht (wie bei Reihenanwendungen), bzw. wo eine übermäßige Größe nicht anwendbar ist, wie bei Point-of-Use-Geräten (POU), sind Kompromisse in Bezug auf die Leistung denkbar. Diese Ultrafilter sind nicht absolut und lassen einige größere Moleküle passieren. Statt sich allein auf eine einzige Point-of-Use-Ultrafiltration zu verlassen, erscheint der Ansatz eines Gesamtsystems effektiver. Dies besitzt den Vorteil einer Kombination von Technologien wie Ionenaustausch, UV-, UF- und chemische Sterilisation.

ELGA Biofilter und ein alternativer Point-of-Use-Filter (auf Harnstoff-Formaldehyd-Basis) Endotoxin-Provokationstest

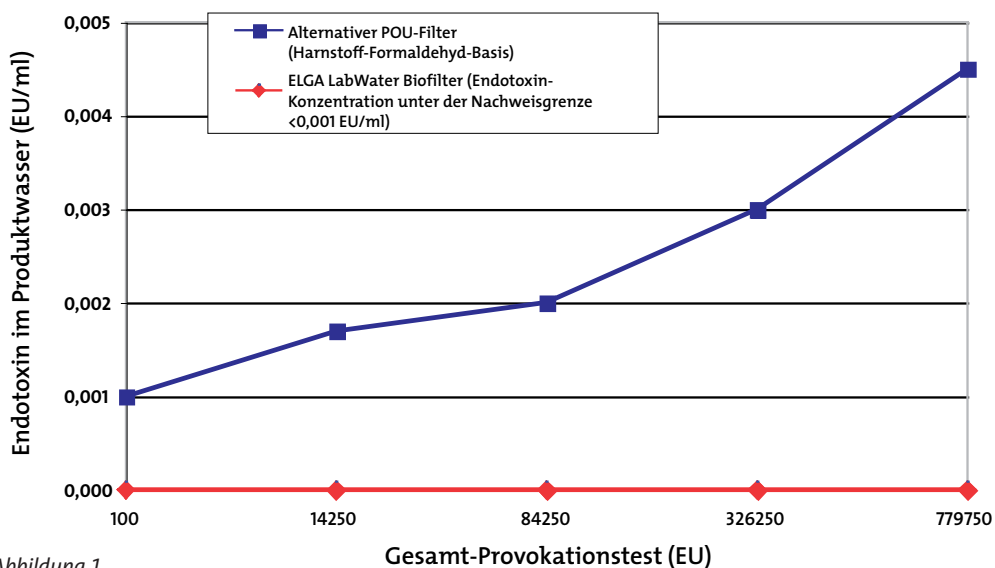


Abbildung 1

Beide Point-of-Use-Filter wurden durch ständiges Zufügen hoher Konzentrationen Endotoxin zum den Filtern zugeführten Wasser provoziert. Die Konzentration von Endotoxin wurde anschließend im Produktwasser mittels des Limulus-Amoebocyte-Lysate-Test (Typ kinetischer turbidimetrischer Assay) gemessen.

Die meisten Endotoxin-Provokationstests sind von gereinigtem LPS abhängig. Das Forschungsteam bei ELGA LabWater stellte sein eigenes LPS aus schon in gereinigtem Wasser vorhandenen Bakterien her. Dies war dazu vorgesehen, eine realistische Umgebung für den Provokationstest zu imitieren. Anfangs 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, was ein konzentriertes Endotoxin ergab.

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 vom Biofilter nachgewiesen werden. Dies entspricht einem Keimreduktionsfaktor von >5.

Neben dem Entfernen von im Produktwasser enthaltenem Endotoxin aus der Anlage darf ein solches Point-of-Use-Gerät nicht das Wasser kontaminieren. Das schnelle Herausspülen von Resistivität und TOC von neuen Filtern, wenn sie das erste Mal verwendet werden, ist ein großer Vorteil und eine gute Indikation für einen laufenden minimalen Kontaminationseintrag in das Produktwasser. Dies ist entscheidend wichtig, da die Wasserreinheit nicht nach dem Filter kontrolliert werden kann. Das schnelle Herausspülen des Biofilters von TOC ist unten dargestellt. Das Herausspülen von TOC ist effizienter als ein auf Ultrafiltration basierender alternativer Point-of-Use-Filter.

Herausspülen von TOC aus Biofilter und Alternativer POU-Filter (Harnstoff-Formaldehyd-Basis)

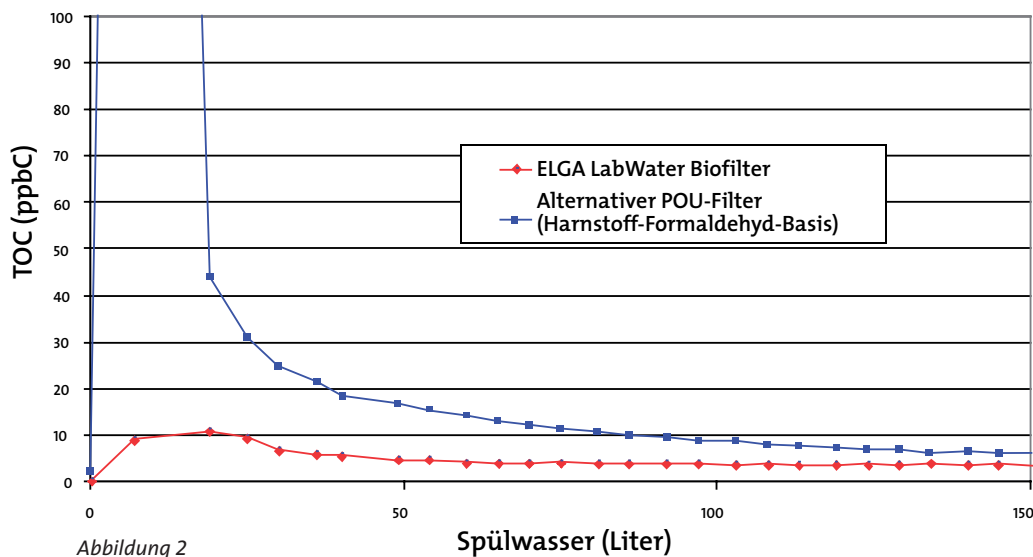


Abbildung 2

Eliminierung der Endotoxin kontamination erfordert eine Kombination effektiver bakterieller Kontrolle über UV, chemische Sterilisierung und optimale POU-Reihenfiltration. Positiv geladene Filter bieten das ideale Mittel zum Entfernen der letzten Spuren von Endotoxin aus ultrareinen Wassersystemen. Der Biofilter wird dringend empfohlen zur Anwendung als positiv geladener Filter und verursacht vernachlässigbaren Kontaminationseintrag.

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

F +41 56 619 89 18 www.labtec-services.ch

