

Technologie/Process

La filtration tangentielle en bioproduction

La filtration tangentielle (ou TFF = Tangential Flow Filtration) est une des méthodes couramment utilisée dans les procédés de bioproduction. Elle permet de séparer des composés, comme des protéines, selon leur taille ou poids moléculaire. La filtration tangentielle permet également de modifier la composition d'un solvant, en ajoutant des excipients (stabilisant, conservateur...) permettant la formulation du produit purifié. On parle alors de diafiltration. Cette technique permet également de réduire les volumes à traiter et ainsi de concentrer le produit d'intérêt à une valeur seuil.

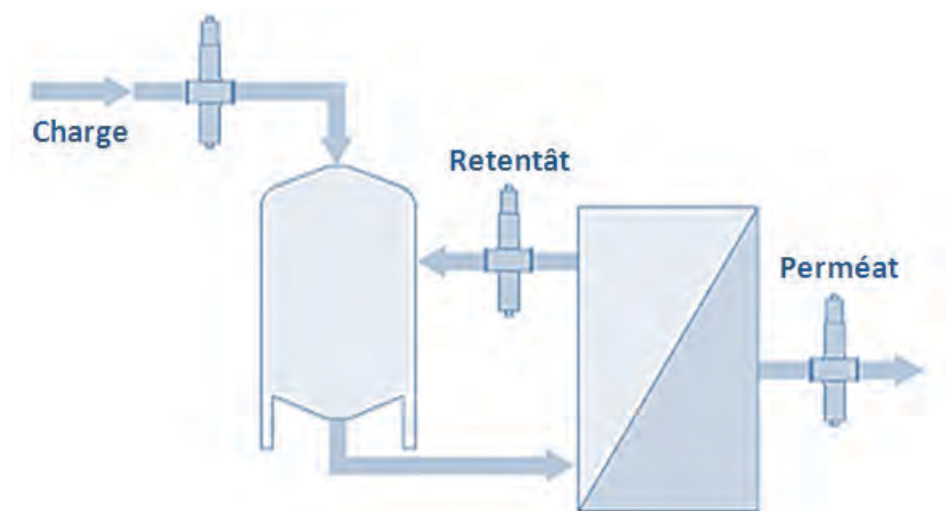
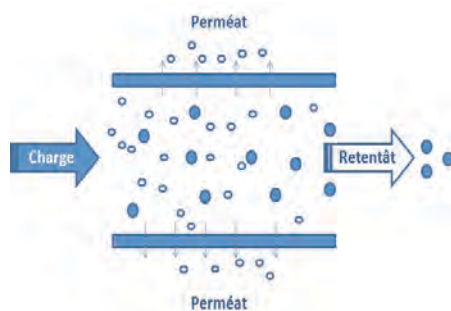


Schéma d'une installation de TFF ©Groupe-IMT tous droits réservés

La filtration tangentielle se distingue de la filtration frontale par le fait que le fluide à traiter circule parallèlement à la membrane filtrante et non perpendiculairement. La filtration s'effectue donc par frottement des composants sur la membrane grâce à un débit. La filtration n'est pas « absolue », le rétentat (ou concentrat) doit recirculer plusieurs fois sur le filtre pour se concentrer de plus en plus. On parle alors de débit de recirculation.

Le débit de recirculation optimal est donné par le fournisseur de la membrane filtrante et doit être maintenu constant tout au long de l'opération de filtration pour réduire le colmatage de la membrane. Pour cela, des essais avec le produit sont mis en place pour déterminer à quel ΔP (Pa - Pr) cela correspond.



Passage du fluide à travers la membrane ©Groupe-IMT tous droits réservés

Cette donnée présente également son importance lors du nettoyage de la membrane, puisqu'il suffira de se placer à nouveau dans les mêmes conditions pour assurer le nettoyage de la surface de la membrane en fin de procédé.



Jérôme Grugier
Groupe IMT
j.grugier@groupe-imt.com



Bertrand Gatefin
Groupe IMT
b.gatefin@groupe-imt.com

Les molécules dont la taille est plus petite que le seuil de coupure de la membrane (soit la taille des pores) pourront passer à travers cette dernière. Pour augmenter l'effet de passage à travers la membrane, il faut augmenter la pression transmembranaire. Ce paramètre est la résultante des 3 pressions qui entrent en jeu dans ce procédé, à savoir la pression d'alimentation (P_a) et la pression de rétentat (P_r) pour les pressions situées en amont de la membrane, et la pression filtrat (ou perméat) (P_f) en aval, selon la formule :

$$PTM = ((P_a + P_r) / 2) - P_f$$

Pour augmenter le pouvoir filtrant de la membrane (augmentation du débit du filtrat), il faut augmenter la PTM, et donc augmenter la pression du rétentat. Pour augmenter la P_r , il suffit de brider le passage du rétentat. Seulement cette manipulation entraîne un risque de colmatage plus important auquel on remédie en maintenant constante la différence entre les pressions en amont (P_a et P_r).

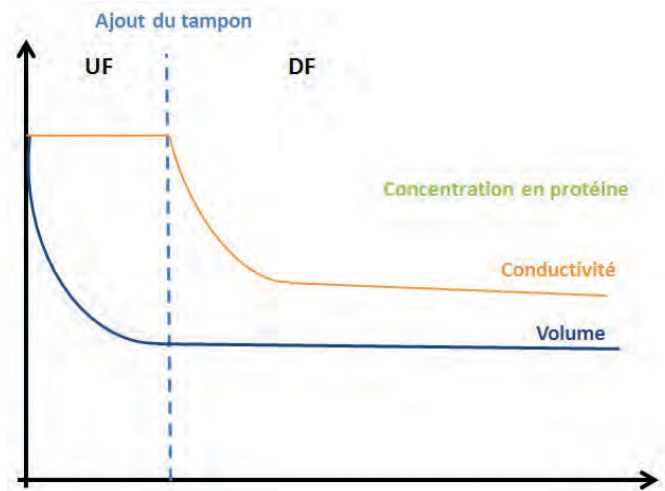


Cartouche filtrante ©Merck-Millipore



Bloc de filtration système ©Novasep

Pour chaque process, il existe une PTM optimale au-delà de laquelle l'augmentation de pression sera inutile car cela n'augmentera pas plus le débit de filtration. En effet, la porosité de la membrane engendre des limites en termes de flux. Aller au-delà de la PTM optimale serait prendre le risque d'endommager la membrane sans pour autant gagner du temps en production... bien au contraire !



Comparaison UF / DF ©Groupe-IMT tous droits réservés

Le schéma ci-dessus illustre la différence entre ultrafiltration (UF) et diafiltration (DF). En ultrafiltration, le volume diminue ce qui entraîne une concentration de la protéine d'intérêt. La mesure de la conductivité au niveau du filtrat reste constante car il y a élimination du même tampon au cours du temps.

En diafiltration, il y a ajout d'un nouveau tampon en grande quantité jusqu'à élimination de l'ancien milieu. Cette étape se réalise à volume constant, la concentration de la protéine d'intérêt reste la même. La conductivité évolue soit en augmentant, soit en diminuant (comme dans l'exemple ci-dessus) jusqu'à devenir constante, ce qui indique la fin de l'opération.

Le suivi des opérations UF/DF au niveau du filtrat peut se faire par conductivité (comme illustré ci-dessus), mais aussi par pH-métrie ou mesure de la densité optique.

Ce procédé de séparation est beaucoup plus efficace que la filtration frontale mais engendre des durées de séparation supérieures. Il faut aussi utiliser des volumes de solutions tampons bien supérieurs au volume de produit à traiter afin d'éliminer la totalité des composés indésirables. L'intégrité du filtre ne peut être vérifiée que par le contrôle des différentes pressions et du débit de recirculation.



Équipement industriel de TFF ©Ymélia

En revanche, ce procédé permet de concentrer considérablement le produit et ainsi d'arriver à des volumes acceptables pouvant être traités ensuite par chromatographie ou pour une formulation ultérieure d'un biomédicament, le plus souvent injectable. Un autre avantage de la filtration tangentielle est que le colmatage du filtre est réduit, ce qui peut permettre de réutiliser la membrane filtrante plusieurs fois. Les cartouches filtrantes sont conservées à froid, dans un milieu tampon généralement à base de soude pour éviter tout développement de contaminant biologique.

A l'issue de ce procédé, il n'est pas revendiqué la stérilité du produit d'intérêt, mais il est recherché une très faible charge microbienne. Les conditions environnementales de travail sont donc moins contraignantes en purification, même si des précautions restent bien évidemment à prendre. ■

Références bibliographiques :
- Bio3 – IMT Editions

Microbiologie traditionnelle

- Produits non stériles
- Produits stériles
- Identification bactérienne et fongique
- Endotoxines
- Activité des biocides et des conservateurs
- Antibiotiques
- Microbiologie et chimie des eaux
- Monitoring environnemental

Microbiologie alternative

- Dénombrement en 48h et stérilité sur Bact/Alert 3D®
- Contrôle des eaux et des produits filtrables en temps réel (Cytométrie sur filtre sur système Chemsan RDI®)
- Identification par Spectrométrie de masse sur Vitek MS® (Maldi ToF)

**Le partenaire spécialisé
en microbiologie
traditionnelle et alternative**

ACM
pharma



www.acmpharma.com

☎ (+33) 02 38 90 41 01

✉ info@acmpharma.com

