
МЕМБРАНА И МЕМБРАННЫЙ МОДУЛЬ ДЛЯ ВИРУСОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ВОДЫ

*А.Г. Санамян, Р.А. Дмитриева, Т.В. Доскина, А.Е. Недачин,
А.В. Тарасов^{*)}, Ю.А. Федотов^{*)}*

ГУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды
им. А.Н.Сысина РАМН, г. Москва
^{*)} ООО НПП «Технофильтр», г. Владимир

Изучена эффективность 9 различных фильтрующих мембран отечественного производства в отношении концентрирования энтеровирусов из воды в режиме микрофильтрации. Проведена оценка эффективности мембранного модуля «МФМ 0142» для тангенциальной фильтрации с использованием микропористой мембраны капроновой ММК 1 с размером пор 0,2 мкм и диаметром 142 мм, как наиболее эффективной по результатам оценки концентрирующей способности. Выявлено, что использование данной установки в комплекте с мембраной ММК 1 позволяет выделить до 83% вируса, содержащегося в воде.

Ключевые слова: концентрирование энтеровирусов из воды, мембранная фильтрация микрофильтрация, тангенциальный поток.

The efficiency of 9 various Russian filtering membranes in the relation of the enteroviruses concentration from water in a mode of a microfiltration is investigated. The estimation of efficiency membrane module " MFM 0142 " for cross-flow filtration with using a kapron microporous membrane ММК 1 with 142 mm diameter and 0,2 microns pores, as the most effective by results of an estimation of concentrating ability is carried out. This installation with membrane ММК 1 has high efficiency (before 83%) in the relation of viruses concentration from water is revealed.

Keywords: enteroviruses concentration from water, a membrane filtration, a cross-flow microfiltration .

Кишечные вирусы, попадая с выделениями в окружающую среду, загрязняют сточные воды, воды открытых водоёмов, источники подземного и поверхностного водоснабжения.

Концентрация вирусов в воде постоянно изменяется в зависимости от эпидемической обстановки, состояния систем канализации, эффективности очистки сточных вод и эффективности систем водоподготовки и по данным литературы может колебаться от 10^3 до 10^6 БОЕ/л в неочищенных сточных водах и от 10 до 10^3 БОЕ/л в воде поверхностных водоемов [1,3,6,7,10]. В питьевой воде вирусы содержатся в низких концентрациях и их количество колеб-

лется от единиц до десятков [2, 3]. Основное затруднение, возникающее при вирусологическом исследовании воды, связано с малым количеством вирусов, которое, тем не менее, может иметь определенное эпидемическое значение. По данным экспериментальных исследований [17,18], проведенных на волонтерах, было установлено, что дозы энтеровирусов, вызывающих заболевания у человека, могут колебаться от 1 до 10 вирионов, при этом 1 вирион вызывал заболевания у 19-30% волонтеров.

Своевременный вирусологический контроль воды различного назначения позволит оценить не только их качество, но и эпидемиче-

скую обстановку, и в ряде случаев, прогнозировать ее обострение и проводить соответствующие противоэпидемические мероприятия. Одним из важнейших этапов санитарно-вирусологического контроля качества воды является этап концентрирования вирусов из больших объемов воды (10-1000 л и более) [5,11,12]. Для проведения этих исследований необходимо наличие методического обеспечения, дающего возможность осуществления быстрой, адекватной и, что очень важно, количественной оценки реального вирусного загрязнения питьевой воды. Наиболее полно необходимым требованиям отвечает технология мембранной фильтрации. Последняя давно используется в практике санитарно-бактериологического анализа, также может использоваться и для индикации вирусного загрязнения воды при наличии высококачественных мембран отечественного производства.

В настоящее время отечественной и зарубежной промышленностью выпускаются мембраны, изготавливаемые: из разных материалов, различающихся по химическому составу [4,9,14,15,13]; выполненных на различной сырьевой технологической основе [4, 8,19]; обла-

дающие различным качеством и эффективностью при выделении микроорганизмов из воды.

В связи с выше изложенным, нами изучалась эффективность различных, производящихся на территории России фильтрующих мембран в отношении концентрирования вирусов из воды в режиме микрофильтрации, дающих возможность концентрирования с большей скоростью, чем на ультрафильтрах и лабораторного мембранного модуля «МФМ 0142» для тангенциальной фильтрации. В режиме тангенциального потока жидкость в закрытой системе пропускается под давлением вдоль поверхности мембраны, не отфильтрованный же продукт возвращается в цикл, а фильтрат удаляется. Поскольку жидкость проходит касательно к поверхности мембранного фильтра, большинство частиц при этом поддерживается во взвешенном состоянии и рециркуляция возвращает сконцентрированные частицы обратно к подающему резервуару. Концентрирование вирусов таким путем происходит намного быстрее, чем при обычной фильтрации в тупиковом режиме. Различие между обычной фильтрацией и фильтрацией методом тангенциального потока иллюстрирует рис. 1.

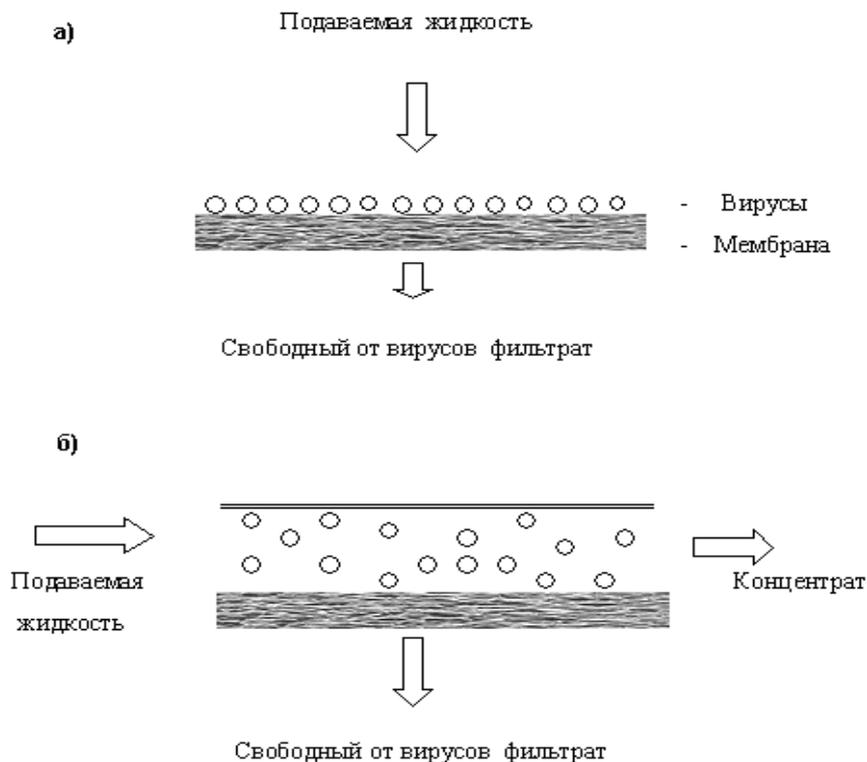


Рис. 1. а) обычная фильтрация
б) фильтрация методом тангенциального потока

Как видно из представленной схемы различие между обычной фильтрацией и фильтрацией методом тангенциального потока заключается в том, что при тангенциальном потоке жидкость, проходящая по касательной к поверхности мембраны, смывает частицы и предохраняет мембрану от забивания.

Метод тангенциального потока вначале был разработан для ультрафильтрации и обратного осмоса и лишь позднее нашел применение для микрофильтрации [20,21].

На первом этапе была проведена сравнительная оценка эффективности фильтрующих мембран отечественного производства (НПП «Технофильтр»):

- Микропористая мембрана капроновая (ММК) - исходная;
- ММК 1 - модифицированная 0,5% соединениями аминов;
- ММК 2 - модифицированная 1% соединениями аминов;
- ММК 3 - модифицированная 1% соединениями пиридина;
- Трековая мембрана (ТМ) – исходная;
- ТМ – модифицированная гемоглобином;
- ТМ – модифицированная бифэкстрактом;
- Металло-керамические мембраны (МКМ) – исходная;
- МКМ – модифицированные 1% соединениями аминов.

Исследования проводили в экспериментальных условиях с искусственным заражением водопроводной дехлорированной воды. В качестве моделей вирусного загрязнения использовались РНК-содержащий фаг - MS-2 и вакцинный штамм вируса полиомиелита 1 типа (штамм LSc 2ab). Десорбцию вирусов с фильтров проводили 3% раствором бифэкстракта на трисбуфере с рН 9,0-9,4 [16]. После десорбции рН элюента доводили до 7,0-7,2. На наличие фагов и полиовируса исследовали: исходную воду, фильтрат, элюат.

Результаты исследований по оценке эффективности вышеуказанных фильтрующих мембран в отношении фага MS-2 представлены в табл. 1.

Как видно из представленных данных фильтрующие мембраны обладали различной

степенью сорбции и элюции в отношении фагов.

Наиболее высокая степень сорбции и элюции наблюдалась у фильтрующих мембран ММК, модифицированных 0,5 % соединениями аминов, изготовленных из нейлона. Во всех случаях наблюдалась 100% сорбция, а процент элюции колебался в пределах 85,29-95,05%.

На втором этапе проводили оценку эффективности фильтрационного мембранного модуля «МФМ 0142» отечественного производства с наиболее эффективной мембраной ММК с размером пор 0,2 мкм и диаметром 142 мм. Исследования проводили в таких же экспериментальных условиях, что и во время оценки эффективности фильтрующих мембран.

Полученные результаты представлены в табл. 2.

Как видно из приведенных результатов (табл. 2) эффективность сорбции не зависит от исходной концентрации фага в пределах возможного уровня вирусного загрязнения водопроводной воды ($10^1 - 10^2$ БОЕ/100 мл) и составляет 100 %, а процент элюции колеблется в пределах 80,40 – 84,51 %.

Для оценки эффективности концентрирования вируса полиомиелита из 10 л водопроводной воды были использованы оптимальные условия, полученные на модели колифага. Результаты исследований представлены в табл. 3.

Как видно в табл. 3 эффективность мембраны в отношении концентрирования полиовируса была также высокой и колебалась в пределах 71,42 – 88,88%.

Далее проводили оценку эффективности мембранного модуля в условиях, приближенных к натурным. Для исследований использовалась вода из реки, в которую вносили полиовирус. Элюцию вирусов проводили путем смыва с поверхности 3% бифэкстрактом на трисбуфере с рН 9,0 – 9,5.

Полученные результаты представленные в табл. 4 показали, что максимальная эффективность выделения вируса полиомиелита составила 83,33% (табл. 4).

Проведенные исследования показали, что испытанная установка в комплекте с ММК 1 проста и удобна в обращении, не требует специальной подготовки персонала, обладает высокой производительностью (10 л за 43 мин.) и может

Таблица 2. Оценка эффективности мембранного модуля «МФМ 0142» в отношении концентрирования фага MS-2

Концентрация фага в БОЕ /10 л			% сорбции	% элюции
Исходная вода	Фильтрат	Элюат		
3000	0	2535,3	100	84,51
1140	0	917	100	80,40
276	0	129	100	82,92
139	0	114	100	82,01
86	0	72	100	83,72

Таблица 3. Оценка эффективности мембранного модуля «МФМ 0142» в отношении концентрирования полиовируса

Концентрация вируса в ТЦД ₅₀ /мл		% эффективности
Исходная вода	Элюат	
3,24x10 ³	2,47x10 ³	76,23
2,25x10 ³	2x10 ³	88,88
1,75x10 ²	1,5x10 ²	85,71
1,75x10 ²	1,25x10 ²	71,42
1,75x10 ²	1,5x10 ²	85,71

Таблица 4. Эффективность мембран ММК 1 на установке «МФМ 0142» в отношении выделения вируса полиомиелита из речной воды

№№ п/п	Вид воды и ее объем	Кол-во элюента в мл	Концентрация вируса в ТЦД ₅₀ /мл		% эффективности
			В исходной воде	В элюате	
1	Речная вода (2,5 л)	60	1,5x10 ¹	1,25x10 ¹	1
2	Речная вода (5 л)	60	1,5x10 ¹	1x10 ¹	2
3	Речная вода (5 л)	60	1,5x10 ¹	0,75x10 ¹	3
4	Речная вода (5 л)	60	1,5x10 ²	1,25x10 ²	4
5	Подземная вода (5л)	60	3,2x10 ³	2,5x10 ³	5

быть использована как лабораториями НИИ, так и практической службой для концентрирования вирусов из питьевой и речной воды.

Литература

1. Айзен М.С. Современные методы обнаружения энтеровирусов в воде и пищевых продуктах // Методы индикации биоценоза патогенных и потенциально патогенных микроорганизмов в объектах окружающей среды. М. 1985, с.104-109.
2. Амвросьева Т.В., Вотяков В.И., Дьяконова О.В. и др. Современные подходы к изучению и оценке вирусного загрязнения питьевых вод // Гигиена и санитария. 2002. № 1, с 76-79.
3. Багдасарьян Г.А. Гигиеническое регламентирование вирусного загрязнения объектов окружающей среды // Гигиена и санитария. 1985. №4, с.9-12.
4. Брок Т. // Мембранная фильтрация. М. 1987, 462 с.
5. Дмитриева Р.А. Гигиенические вопросы водного пути передачи вирусных гепатитов // Гиг. и сан. 1988. №8, с. 56-59.
6. Дроздов С.Г., Казанцева В.А. Патогенные вирусы и проблемы окружающей среды // Вест. АМН СССР. 1981. №3, с.85-93
7. Казанцева В.А., Дроздов С.Г. Эпидемиологическое значение зараженности энтеровирусами объектов окружающей среды // Вирусы и вирусные инфекции человека. М. 1981. с.21-22.
8. Лукьянова Э.Г., Филлипова М.Л., Громов В.И. и др. Очистка инфекционного вируса гриппа методом микрофильтрации // Вопросы вирусологии. 1989. №2, с.240-243.
9. Панферова С.М., Скотникова Т.А., Иванова Н.А., Люлькова Л.С. Концентрирование и очистка вируса ньюкаслской болезни методом микрофильтрации // Науч. основы технол. пром.пр-ва вет. Биол. Препаратов: Тез.докл. 5 Всерос. Конф. Щелково, 1996. с.22-23.
10. Сидоренко Г.И., Можжаев Е.А. Вопросы гигиены воды за рубежом // Гигиена и санитария. 1994. №3, с.12-17.
11. Bosch, A., Rosa M. Pinto, et al. // Wat. Res. 1988. Vol. 22, №3, pp. 343-348.
12. Gajardo R, Bouchrit, R.M.Pinto and A.Bosh. Genotyping of Rotavirus Isolated from Sewage // Appl. Environ. Microbiol. 1995. V 61, № 9, p. 3460-3462.
13. Georgios T. Papageorgiou, Laura Moci-Llivina, Christina G. Christodoulou, et al. A simple methodological approach for counting and identifying culturable viruses adsorbed to cellulose nitrate membrane filters // Appl. Environ. Microbiol. 2000. V 66, № 1, p. 194-198.
14. Jersy Lucasik, Troy M.Scott, Diane Andryshak, Samuel R. Farrah Influence of salts on virus adsorption to microporous filters // Appl. And Environ. Microbiol. July 2000, Vol. 66, № 7, p.2914-2920.
15. Joret J.C. et al. Some limits in corrent adsorption-elution methods for the defection of viruses in large volumes of tap water // Water Sci. and Technol. 1986. Vol.18, №10, p.133-140.
16. Kellogg J. Schwab, Ricardo De Leon, Mark D. Sobsey Concentration and purification of beef extract mock eluates from water samples for the detection of enteroviruses, hepatitis A virus, and Norwalk virus by reverse transcription-PCR// Appl. And Environ. Microbiol. Feb. 1995, p.531-537.
17. Minor T.E., Allen C.I., Gsiatis A.A., et.al. Human infective dose determinations for oral poliovirus type 1 vaccine in infants. // j. Clin. Microbiol. 1981, v.13, p.338-389
18. Schiff G.M., Stefanovic G.M., Young B., Pennekamp J.K. Minimum Human Infections Dose of Enteric Virus (Echovirus-12) in Drinking Water // Enteric Viruses in water Ed.j. Melnick, Huston, Tex. Karger . 1984. p.222-22.
19. Sobsey Mark D., Schwab K.I. A simple membrane filter methods to concentration and enumerates male-specific RNA colifages // J.Amer. Water works Assoc. 1990. Vol.82, №9. – p.52-59.
20. Tanny G. B., Haur D., Merin U. Biotechnological applications of cross-flow microfiltration // Desalination. Elsevier, Amsterdam, 1982. Vol. 41.
21. Tanny G. B., Mirelman D., Pistole T. Усовершенствованная техника фильтрации для концентрирования и культивирования бактерий // Appl. Environ. Microbiol. 1980. № 40, p. 269-273.