

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
D06M 15/61 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780029793.8

[43] 公开日 2009 年 8 月 5 日

[11] 公开号 CN 101501269A

[22] 申请日 2007.7.19

[21] 申请号 200780029793.8

[30] 优先权

[32] 2006.7.19 [33] FR [31] 0606591

[86] 国际申请 PCT/FR2007/051691 2007.7.19

[87] 国际公布 WO2008/009862 法 2008.1.24

[85] 进入国家阶段日期 2009.2.10

[71] 申请人 鲁昂大学

地址 法国蒙圣艾尼昂

[72] 发明人 广仲·宁 洛朗·勒布伦

[74] 专利代理机构 北京律诚同业知识产权代理有限公司

代理人 徐金国 梁 挥

权利要求书 2 页 说明书 12 页 附图 1 页

[54] 发明名称

抗病毒过滤装置及其在空气净化器、空调或空气加湿器中的应用

[57] 摘要

本发明涉及一种纤维床，该纤维床较佳带负电荷，并涂有具有净正电荷的阳离子聚合物；本发明还涉及包括所述纤维床的抗病毒过滤装置和制造所述具有抗病毒特性的纤维床的方法。

1、纤维床, 较佳带负电荷, 涂有至少一层阳离子聚合物, 其中氮原子不被烷基基团取代, 氮原子也不被季铵化, 并且其质子化水平至少为 20%。

2、如权利要求 1 所述的纤维床, 其特征在于, 在所述纤维床的一个或其他表面用阳离子聚合物膜涂层, 该膜的厚度为 $0.5 \cdot 10^{-3} \mu\text{m}$ 至 $5 \mu\text{m}$, 较佳为 0.001 至 $1 \mu\text{m}$, 更佳为 0.001 至 $0.01 \mu\text{m}$ 。

3、如权利要求 1 或 2 所述的纤维床, 其特征在于, 所述纤维床正电荷密度为每 cm^2 纤维床 1×10^{-6} 至 1×10^{-8} 摩尔电荷或每 cm^2 纤维床 1×10^{-5} 至 $1 \times 10^{-3} \text{ meq}$, 较佳为每 cm^2 纤维床 1×10^{-7} 摩尔电荷或每 cm^2 纤维床 $1 \times 10^{-4} \text{ meq}$ 。

4、如权利要求 1 至 3 中任一权利要求所述的纤维床, 其特征在于, 所述的聚合物包含在其主链和/或侧链的阳离子基团。

5、如权利要求 1 至 4 中任一权利要求所述的具有抗病毒特性的纤维床, 其特征在于, 所述的聚合物是聚乙烯亚胺。

6、抗病毒过滤装置包括至少一种如权利要求 1 至 5 中任一权利要求所述的纤维床。

7、如权利要求 6 所述的抗病毒过滤装置, 其特征在于, 所述的过滤装置还包括孔径等于或小于 $0.2 \mu\text{m}$ 的纤维床。

8、如权利要求 6 所述的抗病毒过滤装置, 其特征在于, 所述的纤维床孔径等于或小于 $0.2 \mu\text{m}$ 。

9、空气净化器、空调或空气加湿器包括至少一种如权利要求 6 至 8 中任一权利要求所述的过滤装置。

10、医疗设备, 其包括至少一种如权利要求 6 至 8 中任一权利要求所述的过滤装置, 或至少一种如权利要求 1 至 5 中任一权利要求所述的纤维床。

11、如权利要求 10 所述的医疗设备, 其特征在于, 所述的医疗设备为外科口罩、敷料或防护服, 如工作服。

12、制造具有抗病毒特性的纤维床的方法, 其包含使所述纤维床与如权利要求 1 至 5 中任一权利要求所述的阳离子聚合物溶液接触, 然后干燥。

13、如权利要求 12 所述的制造抗病毒特性的纤维床的方法，其特征在于，所述溶液中聚合物浓度为 0.1 和 200 g.l^{-1} 之间，较佳在 1 和 100 g.l^{-1} 之间，更佳在 20 和 80 g.l^{-1} 之间，最好在 40 和 50 g.l^{-1} 之间。

14、如权利要求 12 至 13 中任一权利要求所述的制造抗病毒特性的纤维床的方法，其特征在于，所述聚合物溶液的 pH 值较佳为酸性，较佳在 3 和 6.5 之间，所述聚合物溶液的 pH 值更佳为 6 。

抗病毒过滤装置及其在空气净化器、空调或空气加湿器中的应用

技术领域

本发明涉及卫生风险和公众健康领域，特别是与空气传播病毒存在相关。更具体地说，本发明涉及一种抗病毒过滤装置和选择性地抗菌过滤装置，它能够隔绝存在于空气中的病毒，和可选择地隔绝细菌。本发明还涉及包括所述过滤装置的所有产品，如，例如空调、空气净化器、空气加湿器或医疗设备，如，例如外科口罩。

背景技术

消除空气传播病毒是当今一个重要的公共卫生问题。例如，最近在亚洲的病毒性传染病（禽流感，SARS）已经表明，确实需要预防病毒攻击的发生。由于病毒的快速突变及其突然的复制和增殖，免疫是一个相对低效的方法。现有的细菌过滤装置，如，目前的 HEPA 过滤装置，例如常规外科口罩，并不是一种有效的防止病毒感染保护屏障。这些过滤装置实际上是由几层无纺聚丙烯构成，其滤孔尺寸为 $0.2\ \mu\text{m}$ 。这个孔径并不能有效滤过病毒，因为病毒的尺寸更小（80 至 110 nm）。因此，针对这一保护需要，制造抗病毒过滤装置可能代表了一种令人关注的方法。

业已描述抗病毒过滤装置生产的几个方法。

例如，日本的专利申请 JP2004432430 描述了一种含有从莎莎莲草中提取的化合物的过滤装置，这种化合物可能有抗菌和抗病毒特性。

US 专利 5888527 描述一种浸渍茶叶多酚的抗病毒口罩，其含有儿茶素和茶黄素，这可使人们有可能通过抑制病毒复制和改变病毒膜的物理性质来使病毒失活。

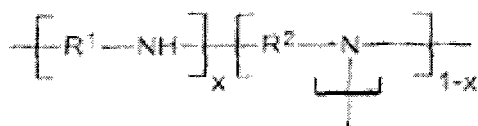
国际专利申请 WO03/051460 涉及包括一种被动过滤装置和一种含有消毒剂的有源过滤装置的口罩。该无源过滤装置可允许尘埃粒子、细菌和芽孢保留，而有源过滤装置可杀死细菌、芽孢和病毒，这些生物太小而不能被无

源过滤装置拦截。有源过滤装置包括抗菌剂、抗生素或抗病毒剂，如双氯苯双胍己烷（chlorohexidine）或其他含氯防腐化合物或防腐卤素。

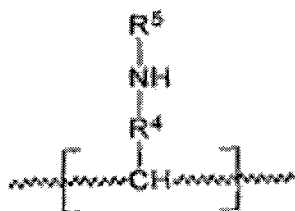
最后，Kawabata 等人具体提出并表明 4 -乙烯基吡啶聚合物有抗菌活性（Kawabata 等，Antibacterial activity of soluble pyridinium-type polymer, Applied and Environmental Microbiology, 1988, pp. 2532-2535），以及当其在非织造布中，以直径为 1.7 μm 的珠子形式聚合时有抗病毒活性(N. Kawabata 等，1998, Reactive & functional polymers, No.37 p 213-218)。这篇文章中的 4 -乙烯基吡啶聚合物在二乙烯基苯的存在下，在孔径为 14 μm 的非织造膜中聚合，以获得直径为 1.7 μm 的珠子。根据作者，二乙烯基苯的存在必不可少，因为在其缺乏时，聚合形成 4 -乙烯基吡啶均聚物膜，使得微孔膜难以得到。因此，要获得微孔膜，4 -乙烯基吡啶以珠子的形式聚合很重要。

根据 Kawabata 等人，病毒滞留效力可能因为这种特定吡啶型聚合物对病毒的特异性亲和力（聚合氯化 N -苄基- 4 -乙烯基吡啶（N-benzyl-4-vinylpyridinium polychloride））造成。由于无法解释这一亲和力的原因，Kawabata 提出假设：（1）聚合物正电荷和病毒的负电荷之间的静电相互作用；和（2）这一聚合物和病毒的疏水相互作用，可能在这一特定的亲和力中发挥重要作用。应该强调的是，由于没有对照实验，这篇文章不能确定观察到的病毒滞留是否实际上是由于 4-乙烯基吡啶聚合物或由于实验条件造成的病毒丢失。

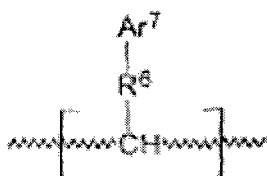
最近，专利申请 WO2006/071191 描述了一种抗菌和/或抗病毒产品，其涂有一种前体聚合物改造的聚合物，所述前体聚合物选自具有通式 I、II 或 III 或后者的共聚物的聚合物组：



通式 I



通式 II



通式 III

式中：

R^1 和 R^2 分别选自直链或分支(C_1 - C_6)烃链，

X 在 0 至 1 之间的范围，

R^4 选自直接键，和直链或分支 (C_1 - C_6) 烃链，

R^5 选自氢，或直链或分支(C_1 - C_6)烃链，

R^6 选自直接键，或直链或分支 (C_1 - C_6) 烃链，

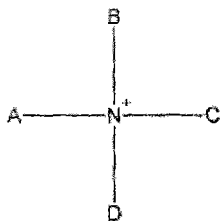
Ar^7 是一包括氮原子的杂芳香基团，

以及式中所述前体聚合物在以下方面改造：

-至少一些所述氮原子由一取代基取代，该取代基选自含有直链或分支 (C_1 - C_{20}) 烷基的组，和

- 在所述前体聚合物中的至少一些所述氮原子季铵化。

在 WO2006/071191 所述的发明含义内，“季铵化氮原子聚合物”是指如下通式的化合物：



式中至少有一个“ A ”，“ B ”，“ C ”和“ D ”残基组成聚合物重复单元部分，

其中不包括在聚合物重复单元中的“A”-“D”残基为任何与氮原子以共价键方式形成稳定阳离子季铵盐化合物的残基。

WO2006/071191 的含义范围内，术语非共价键指如氢键的非共价键。

发明内容

本申请人谋求开发一种具有抗病毒活性的过滤装置，所述过滤装置有较小孔径，较佳小于 5 μm ，最好小于 1 μm ，更好小于或等于 0.2 μm 。根据本发明的过滤装置可通过简单方法制备，它不需要原位聚合，所述过滤装置有一个非闭塞表面，这意味着纤维膜或床仍然保留微孔。

本申请人从而确定该聚合物和病毒之间的亲和力是由于分布在位于所述纤维床整个表面的聚合物网络的正电荷密度，所述电荷最好由位于聚合物主链和/或侧链的氨基产生。

因此，本发明的一个目的是提出一种现有抗病毒过滤装置的替代方法，以满足对空气中病毒的防护措施的需要，并且本发明涉及最好每单位有一个以上氨基的阳离子聚合物的应用，其能够被放置在作为病毒陷阱的纤维床上，该纤维床最好是非纺织布。

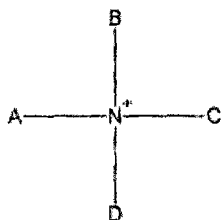
本发明还涉及最好是带负电荷的纤维床，涂层至少有一种阳离子聚合物，该聚合物最好每单位有一个以上的氨基，未被烷基取代的氮原子和未季铵化氮原子，并且质子化水平至少有 20%。

纤维床是指天然、人工或合成聚合物制成的纤维组成的任何织造或非织造层，如纤维素和非纤维素纤维，如聚酯、聚乙烯、聚丙烯或聚酰胺纤维。根据本发明的一较佳实施例，纤维床具有微孔，即其孔径较小，较佳小于 5 μm ，最好小于 1 μm ，更好小于或等于 0.2 μm 。

阳离子聚合物是指任何质子化聚合物，其较佳类型包括在其主链和/或侧链上有氨基，并且其质子化水平使其一方面能够与纤维床结合，另一方面能与病毒结合。阳离子聚合物的较佳质子化水平至少为 20%。

因此，本发明的阳离子聚合物不同于 WO2006/071191 中所述，因其不包括 WO2006/071191 范围内的烷基取代，也没有季铵化氮原子。本发明的阳离子聚合物包括在其主链和/或其侧链的氨基，并且其质子化水平至少有 20%。

在本发明的范围内，“质子胺”或“质子氮”是指以下通式的化合物：



式中至少有一个“A”，“B”，“C”和“D”残基组成聚合物重复单元部分，其中不包括在聚合物重复单元中的“A”-“D”残基是与氮以非共价方式形成稳定的阳离子季铵盐化合物的氢原子。

“质子化水平”是指质子化的氮原子百分比。

在本发明的一个实施例，所述涂层的纤维床电荷密度为每平方厘米纤维床 1×10^{-6} 至 1×10^{-8} 摩尔的电荷或每平方厘米纤维床 1×10^{-5} 至 1×10^{-3} 毫克当量，最好所述纤维床的电荷密度为每平方厘米床 1×10^{-7} 摩尔电荷或每平方厘米纤维床 1×10^{-4} 毫克当量。

每平方厘米纤维床的电荷密度测定可通过本领域有经验的技术人员熟知的方法进行，如在 F. Helfferich 在《<离子交换>》(McGraw-Hill Book Company Inc. Ed. (1962)，第 4 章；72-94 页)中所叙述的那些有可能测定的膜或离子交换树脂的交换容量。

根据一实施例，聚合物包含在其主链和/或其侧链的阳离子基团。

在第一个实施例中，所述阳离子聚合物包含在其主链上有胺基（伯胺、仲胺、叔胺）的聚合物，至少胺基的一部分已经质子化，至少 20% 有利，较佳至少 30%，最好至少 50%。这些阳离子聚合物最好是聚二甲胺联表氯醇或聚二甲胺联表氯醇联乙二胺。质子化百分比测定可通过本领域有经验的技术人员众所周知的技术进行，如 Eyler 等所述(Eyler RW, Krug TS, Siephius S, Analytical Chemistry 1947; 19(1) 24-7)。可检测质子化百分比的其它技术如 Muller 等人所述 (G Muller, C Ripoll and E Selegny, European Polymer Journal, 第 7 (10)册, 1971, 第 1373-1392 页)。

在第二个实施例中，所述阳离子聚合物包含在其侧链上有胺基（伯胺、仲胺、叔胺）的聚合物，至少胺基的一部分已经质子化，至少 20% 有利，较

佳至少 30%，最好至少 50%。这些阳离子聚合物最好是聚乙烯胺、改良的聚丙烯酰胺、聚乙烯基咪唑、二乙氨基多糖、壳聚糖、聚甲基丙烯酸酯，最好是聚 2-甲基-甲基丙烯酸甲酯，并且不包括 4-乙烯基吡啶。

在第三个较佳实施例中，所述阳离子聚合物包含在其主链和其侧链上有胺基（伯胺、仲胺、叔胺）的聚合物，至少胺基的一部分已经质子化，至少 20%有利，较佳至少 30%，最好至少 50%。这些阳离子聚合物最好是聚乙烯亚胺。

根据本发明的较佳实施例，所述聚合物为聚乙烯亚胺。

本发明还涉及到抗病毒和可选择的抗菌过滤装置，其包括至少一个涂有至少一种如前所述的阳离子聚合物的纤维床。

在一较佳实施例中，本发明的过滤装置是一种抗病毒和抗菌过滤装置，其包括至少一个涂有如前所述阳离子聚合物的纤维床，所述纤维床的孔径等于或小于 0.2 μm 。孔径等于或小于 0.2 μm 使纤维床具有抗菌特性；然后这层纤维床表面涂有至少一种阳离子聚合物，因此所述纤维床从而获得抗菌特性之外的抗病毒特性。

所述纤维床的抗病毒性质是指所述纤维床隔绝病毒的能力。

空气传播病毒具体是指流感病毒（流感病毒 A、B 和 C），或冠状病毒（例如 SARS 病毒）。本发明也涉及其他病毒，特别是天花病毒、噬菌体（E.Coli）、肝炎病毒、脊髓灰质炎病毒、轮状病毒、烟草花叶病毒、埃博拉病毒和其他传染性病毒。

在另一较佳实施例中，本发明的过滤装置是一种抗病毒和抗菌过滤装置，其包括至少一个涂上如前所述阳离子聚合物的纤维床，以及至少一个孔径等于或小于 0.2 μm 的纤维床。

有利地，根据本发明的纤维床有效期至少 5 个小时，较佳至少 12 个小时，最好至少 18 小时。

本发明的一个目的还是空气净化器，空调或空气加湿器，其包括至少有一层如前所述的抗病毒和可选择地抗菌过滤装置。

本发明的一个目的还包括一种医疗设备，其至少有一层如前所述的抗病毒和可选择地抗菌过滤装置，特别是外科口罩、敷料、防护服，如工作服等。

本发明还涉及到制造具有抗病毒特性的纤维床的方法，其包括将所述纤维床与如前所述阳离子聚合物溶液接触，然后干燥。

在阳离子聚合物与纤维床的接触中，阳离子，特别是季铵盐，可与纤维床相互作用，从而使得聚合物结合在纤维床上。

根据一实施例，阳离子聚合物溶解于溶剂或混合溶剂。在一较佳实施例中，所述溶剂是一种极性溶剂，最好是水。阳离子聚合物更佳溶解于离子化盐中，具体是氯化钠。

根据一实施例，所述阳离子聚合物溶液中的聚合物浓度是 0.1 到 200 g.l^{-1} ，较佳为 1 到 100 g.l^{-1} ，最好是 20 多至 80 g.l^{-1} 和更好为 40 到 50 g.l^{-1} 。

根据一实施例，聚合物溶液 pH 值最好是酸性的，较佳为 3 至 6.5 ，聚合物溶液 pH 值最好是 6 。

根据一实施例，所述纤维床在环境温度下浸泡在聚合物溶液中或在环境温度下将所述聚合物溶液喷洒到纤维床上。

根据一实施例，所述纤维床浸泡在聚合物溶液 1 分钟至 3 小时，较佳为 5 分钟至 1 小时，最好为 10 至 30 分钟。

根据一实施例，纤维床干燥前进行水洗，以消除多余的聚合物溶液。

根据一实施例，纤维床留在环境温度下蒸发或在空气中通风来干燥。干燥阶段可通过通风或真空炉加速。

根据一实施例，纤维床表面得到的聚合物膜厚度是 $0.5 \times 10^{-3} \mu\text{m}$ 至 $5 \mu\text{m}$ ，较佳为 0.001 到 $1 \mu\text{m}$ ，最好是 0.001 到 $0.01 \mu\text{m}$ 。

本发明包括一种制造如前所述的抗病毒特性的纤维床的方法，该方法进一步包含干燥后交联聚合物的阶段。这一可选步骤有时可以优化聚合物在纤维床上的结合。

本发明还包括一种制造抗病毒和抗菌特性的纤维床的方法，其中制造如前所述抗病毒特性的纤维床的方法适用于孔径小于或等于 $0.2 \mu\text{m}$ 的纤维床。

在下列附加说明的帮助下，即本发明制造抗病毒特性的纤维床的实施例，本发明将得到更好的理解。

具体实施方式

在以下实施例中，通过举例说明，并参考所附的图 1，将说明允许过滤实验的装置。

1、材料和方法

试剂和支架

选定从 Aldrich Chemicals 得到（参考 40872-7，批号 05906DU - 202）高分子量分支聚乙烯亚胺（PEI）为获得抗病毒特性的纤维床，进行这些实验。

这些实验中使用的纤维床来自外科医生的 FFP1 矩形口罩第三层。ATR 模型的红外线分析表明，口罩首两层（对外）是由无纺聚丙烯构成并充当细菌过滤装置，而第三层，也是非织造布（朝脸部），由聚酯纤维素或酯化纤维素混合物所构成。这些层均带负电荷。

质子化胺基测定

这个测量通过 pH-计测定。

取 25 ml 在 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ NaCl 中的 0.44% PEI 溶液 ($4.4 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ 或 $0.102 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) 与 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ HCl 溶液测定，

起始溶液(非质子化 PEI)的 pH 是 11。

加入 14 ml 的 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ HCl 直至总体积为 18 ml，以达到 pH = 6。

在 pH = 6，PEI 的质子化水平为 $75\% \pm 5\%$ (14 ml/18 ml)。

每平方厘米纤维床电荷密度测定

将纤维床（232 平方厘米）的精确表面面积在 50 ml $0.2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ NaCl 中的 4.4% PEI 溶液中浸泡 12 小时。然后将纤维床放置在 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ HCl 溶液中，使得所有结合的 PEI 均质子化。

然后用水清洗纤维床直到达到恒定 pH 值，以清除过量盐酸。

纤维床最后放置在 8 毫升水中。纤维床上的正电荷数量用 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ 苏打测定。

初始 pH 值为 8.56。得到 2.5 cm^3 的 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ 苏打的等效当量。

这相当于 $3.125 \times 10^{-3} \text{ mol} / \text{L}$ 的酸浓度，或在 8 毫升水中的 2.5×10^{-5} 摩尔酸。

考虑到 1 摩尔酸与 1 摩尔的 PEI 重复单位 ($M_{\text{PEI}} = 43 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) 反应，因此 $1.075 \times 10^{-3} \text{ g}$ 的 PEI 结合在 232 平方厘米纤维床上，相当于每平方厘米

纤维床 4.63×10^{-6} g 的 PEI。

因此所述纤维床的电荷密度值为每平方厘米纤维床 1.1×10^{-7} 摩尔的 PEI，或者较佳为每平方厘米纤维床 1.1×10^{-4} 毫克当量。

第 3 层的改造

功能层涉及到口罩第 3 层，即以下所称的纤维床。

非纺织层在 pH = 8 或 pH=6 的 0.2 M NaCl 中的 4.4%（质量）的 PEI 溶液中浸泡一天。

盐可以增加结合聚合物的数量。pH 值 8 相当于之前所确定的最适结合 pH 值。pH 值 6 可以增加质子化，较佳地，PEI ($7 < pK_a < 9$) 季铵化，因此，以提高其结合力。然后滴干该层，水洗，缓慢搅拌 10 小时，然后风干。最后，紫外线消毒该层，然后安装在过滤反应器中。

病毒和菌株

一种大肠杆菌菌株的寄生噬菌体 T4 被选为测试病毒。噬菌体 T4 和大肠杆菌菌株对人类和环境均为非致病性。

培养基

培养基 1 用于感染有噬菌体的大肠杆菌，并用于过滤实验。它的组成包括一公升的去离子水（Milliro®）：蛋白胨和肉类提取物：13 克，酵母提取物：5 克；NaCl：5 克； KH_2PO_4 ：8 克；NaOH，以获得 7.6 的 pH 值。

培养基 2 比培养基 1 丰富，用来测定噬菌体。它的组成包括一公升的去离子水（Milliro®）：蛋白胨和肉类提取物：10 克；葡萄糖：10 克；NaCl：3 克， KH_2PO_4 ：0.044 克； $CaCl_2$ ：0.011 克； $MgCl_2$ ：0.203 克；NaOH 溶液，以获得 7.6 的 pH 值。

蛋白胨、肉和酵母提取物是丰富蛋白质的基质，糖类和水溶性维生素用于细菌生长。葡萄糖是一种有相同作用的糖类。NaCl、 $CaCl_2$ 、 $MgCl_2$ 为生物体存活所需的盐。 KH_2PO_4 是一种缓冲液，从而可保持恒定 pH 值。

一旦配制好培养基 1 和 2，置于 250 cm^3 的 Erlenmeyer 烧瓶中。使用其液态形式或与 3% 琼脂（质量）（凝胶多糖）一起形成胶体形式（对培养基 2 来说）。将后者倒入培养皿中，用来进行检测计数。培养基进行高压灭菌（ 120°C 20 分钟），然后冷却存放。葡萄糖分开高压灭菌，以防止其与培养基焦糖

化。

装置

装置如图 1 所示。它由一空气压缩机/气溶胶发生器（法国扩散技术-圣埃蒂安-法国）组成，并连接一喷雾器（Atomisor NL11）。一孔径为 $0.22\ \mu\text{m}$ （Gelman）的气体过滤装置放置在发电机和喷雾器之间，以防止寄生菌污染。

反应器是一两部分过滤支持器，玻璃制成，包括空气入口和出口。膜以消毒形式插入覆盖该反应器的毛玻璃连接处的两个橡胶垫片之间。该装置由夹子夹持。

反应器出口连接到液体阱（ $50\ \text{cm}^3$ 生理血清），通过沸腾以溶解穿过膜的病毒。剩余空气流动穿过含有 Javel 水的第二液体阱，以中和少许并未溶解的病毒。

整个装置采取组件的方式高压灭菌，并在之前紫外线消毒的层流遮光罩下以无菌的方式装配。

过滤实验的步骤

所述实验遵循相同步骤。

病毒溶液的制备

在第一阶段，大肠杆菌在 37°C 下用接种环接种到 $150\ \text{cm}^3$ 的培养基 1 中。细菌增长用紫外/可见分光光度计监测。当 $580\ \text{nm}$ 时 OD 达到 0.5（即细胞数为 2.1×10^8 个细胞/ml），将 $18\ \mu\text{l}$ 的噬菌体参考溶液（含 10^{12} 噬菌体/ml）稀释至 $182\ \mu\text{l}$ 生理血清中。取 $20\ \mu\text{l}$ 的这一溶液接种到含有大肠杆菌的培养基 1 中。注射的噬菌体数量必须始终与细胞数成比例。过夜培养后， $130\ \text{ml}$ 培养液在 $3000\ \text{rpm}$ 下离心 10 分钟，以消除细菌。上清液在孔径为 $0.45\ \mu\text{m}$ 的 Millex 型 HA（Millipore）上过滤。滤液回收，以作为待雾化的原液。

过滤实验

$5\ \text{cm}^3$ 的噬菌体原液雾化约 1 小时（空气流量： $8\ \text{L/h}$ ）。之前所述的装置可进行下列实验：

- 无膜，以确定装置造成的病毒损失。
- 3 层外科口罩，以确定其病毒滞留。
- 非功能化的纤维床。

- 在 0.2MNaCl 中 pH = 8 的 4.4% 的 PEI (g/g) 功能化的纤维床。
- 在 0.2MNaCl 中 pH = 6 的 4.4% 的 PEI (g/g) 功能化的纤维床。
- 在 0.2MNaCl 中 pH = 6 的 0.44% 的 PEI (g/g) 功能化的纤维床。

病毒滴定

最后, 移出放在反应器出口处的 0.4ml 溶液, 并在 3.6 cm^3 生理血清中稀释。该溶液依次稀释至 10^{-8} 。然后将 0.25ml 的每种稀释液转移到消毒空试管中, 加入 0.4ml 之前培养的 150 毫升培养基 2 中指数增长阶段的大肠杆菌悬浮液 (参考 $\text{OD}_{580} = 0.8$)。然后将这些试管放置在 37°C 中 30 分钟, 以使噬菌体感染大肠杆菌。然后将 40°C 下 3ml 的软琼脂 (培养基 2 含有 0.6% 的琼脂) 添加到每个试管中。每个试管的内容分布在培养基 2 的含有固体琼脂 (3% 琼脂) 的培养皿中。在计数溶菌斑之前培养皿置于 37°C 24 小时。

原液也以同样的方式滴定 (稀释范围至 10^{-11}), 并作为每个实验的参考。

损耗因素相当于每 cm^3 原液的病毒数除以每 cm^3 的过滤后溶液的噬菌体数。

2、结果和讨论

无膜的仪器中过滤

当噬菌体通过反应器并通过气泡穿过生理血清溶液的恢复过程中, 无膜过滤实验用来评估因雾化造成的噬菌体丢失。发现每 cm^3 含有 1.18×10^{10} 病毒的雾化原液中有每 cm^3 0.72×10^{10} 的病毒。因此, 因装置而受到的损失因素为 1.6。

商业口罩的过滤

3 层外科口罩的病毒滞留效力进行了测试。每 cm^3 含有 2.88×10^{10} 的病毒的雾化原液中发现每 cm^3 0.56×10^{10} 的病毒。因此口罩的损失因素为 5.2。鉴于损耗因素单独对装置的特异性, 因此商业外科口罩相对于病毒完全无效。

无功能性纤维床的过滤

测量没有处理过的纤维床的病毒滞留效力。对每 cm^3 含有 1.22×10^{10} 病毒的雾化原液来说, 每 cm^3 0.43×10^{10} 病毒扩散到这种未经处理的纤维床。因此, 由于未经处理的纤维床 (即未经处理的第 3 层) 的损失因素为 2.9。这

一因素小于 3 层外科口罩是合乎逻辑的, 因为细菌过滤的两层聚丙烯也轻微过滤病毒。

通过 0.2MNaCl 中 pH=8 的 4.4% 的 PEI (g/g) 功能化的纤维床过滤

用 PEI 处理过的纤维床测量病毒滞留表明, 对每 cm^3 含 0.5×10^{10} 的病毒的雾化原液来说, 每 cm^3 1.44×10^3 病毒已经扩散。因此, 由于未经处理的第 3 层所致的损失因素为 3.5×10^6 。因此, 0.2MNaCl 中 pH=8 的 4.4% 的 PEI (g/g) 的处理非常有效地减缓病毒传播。然而, 该处理对病毒并不能使得该层成为完整的阻隔层。

通过 0.2MNaCl 中 pH=6 的 4.4% 的 PEI (g/g) 功能化的纤维床过滤

每 cm^3 含 0.7×10^{10} 病毒的雾化原液通过 0.2MNaCl 中 pH=6 的 4.4% 的 PEI (g/g) 功能化的纤维床过滤。这一层的病毒滞留测量表明, 过滤后没有发现病毒。因此, 经处理的第 3 层病毒滞留是完全的。因为这个处理, 这层对于病毒已经形成了一个完整的障碍层。因此, PEI 是非常有效的聚合物, 使过滤系统成为病毒的障碍。

据 TOC (总有机碳) 分析法证实, PEI 在呼吸中使用 5 小时后没有从支架中分离。呼吸为模拟 8L/min 的空气扩散。

通过 0.2MNaCl 中 pH=6 的 0.44% 的 PEI (g/g) 功能化的纤维床过滤

结合纤维床的 PEI 浓度稀释 10 倍, 以核实其稀释更多倍数的溶液有效性。病毒保留测量结果表明, 每 cm^3 含 5.5×10^7 病毒的雾化原液中每 cm^3 5.5×10^5 病毒通过过滤装置。因此损失因素为 100。因此经 0.44% PEI (g/g) 处理的纤维床效果明显低于经 4.4% (g/g) 处理的纤维床。

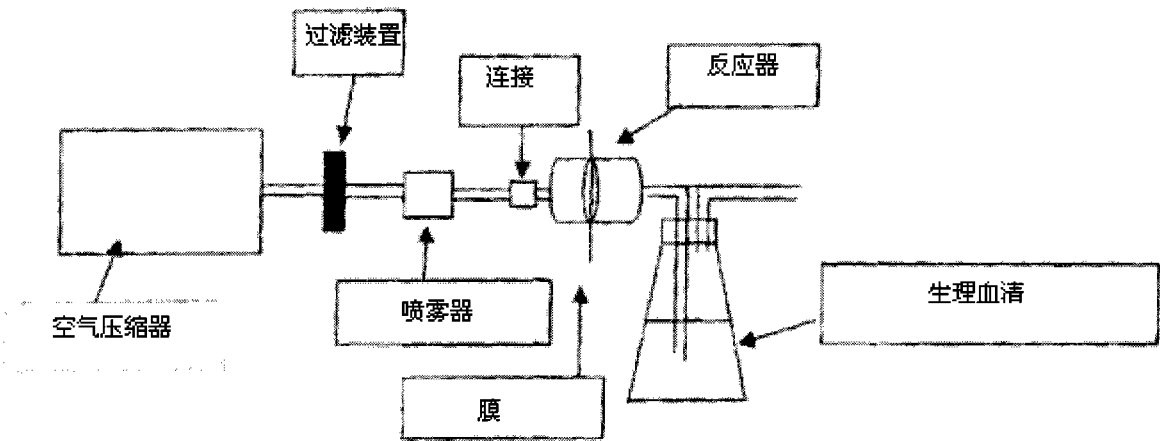


图 1