

إزالة السموم الداخلية لبكتيريا *Escherichia coli* من المياه المعقمة باستخدام تقنية المرشحات النانوية

زينة محمد مهدي سعدي كاظم عبد الحسين عذراء عبد السادة علي عقيل كاظم علوان
وزارة العلوم والتكنولوجيا / دائرة بحوث البيئة والمياه
بغداد - العراق

الخلاصة

أظهرت نتائج الإزالة لوحدات السموم الداخلية ذات تراكيز منخفضة تراوحت بين 0.05-50.0 EndotoxinUnit / ml في التجربة الأولى لعملية الإزالة لسموم بكتيريا *E.coli* ذات عكورة بقيمة 43 N.T.U وحدة قياس عكورة بنسبة إزالة للسموم 99%. أما في التجربة الثانية، كانت نتائج الإزالة للسموم بتراكيز - 18.1 0.05 ذات عكورة 27.2 N.T.U اعتماداً على كفاءة تقنية المرشحات النانوية المستخدمة. استخدمت طريقة Limulus Amybosate Lysate (LAL) Chromogenic لقياس تركيز السموم البكتيرية الداخلية كمياً للمياه الملوثة بتلك السموم والماء المنتج النهائي، باستخدام جهاز Portable Endo Safe Test System والذي يعد التقنية الأولى من نوعها في التحري عن السموم البكتيرية لمدة 20 دقيقة، إضافة إلى قياس العدد البكتيري Colony Forming Unit CFU/ml باستخدام طريقة صب الأطباق Pour Plate Method للمياه الملوثة والماء المنتج النهائي.

الكلمات المفتاحية: السموم الداخلية، مياه معقمة، مرشحات نانوية، *Escherichia coli* وإزالة .

Removal of *Escherichia coli* Endotoxin from Sterilized Water by Using Nanofiltration Membrane.

Zenah Mohammad Mahdi Saadi Kadhum Abed Al Hassen
Athraa Abed Al Saada Ali Aqeel Kadhum Alwan

Ministry of Science and Technology / Directorate of Environment and Water Research
Baghdad – Iraq.

E-mail: Sumsum_197730@yahoo.com.

Abstract

Results to remove endotoxins showed reduced concentration in rang 0.05 - 50.0 Endotoxin Unit / ml in first experiments for processing of *E.coli* toxin with turbidity value 43 N.T.U with ratio of 99 % of toxins removing. In second experiment the results of removing toxins was range from 0.05-18.1 with turbidity Valve of 27.2 N.T.U depending on the efficiency of used nanofilters technique. Method of Limulus Amybosate Lysate (LAL) Chromogenic used to measure concentration of endotoxins quantity of polluted water with toxins and final produced water, by using Portable Endo Safe Tests System which considered as a first technique used to detect bacterial toxins for 20 minutes, in addition counting Colony Forming Unit CFU / ml by using Pour Plate Method for polluted water and final produced water.

Keyword: Endotoxin, Sterilized Water, Nanofilters, *Escherichia coli* and Removing.

المقدمة

قتل البكتيريا السالبة لصبغة كرام يؤدي إلى إفراز السموم نتيجة عمليات التعقيم المستخدمة مثل استخدام تقنية الأشعة فوق البنفسجية (UV)، لهذا السبب تستخدم تقنيات وطرائق كثيرة لإزالة السموم البكتيرية وتعد التقنيات المستخدمة في عمليات الإزالة كمفتاح للسيطرة على معدلات السموم البكتيرية الداخلية، ومن التقنيات المستخدمة في هذا المجال أولاً تقنيتا الفصل والترشيح ومبدأهما تقليص حجم السموم من خلال تفكيكها وبدون امتزاز من خلال استخدام أغشية ترشيح نصف ناضحة مثل أغشية التنافذ العكسي (Reverse Osmosis Membrane)، وهذا النوع من الأغشية يستخدم في المرشحات النانوية التي استخدمت في عملية الإزالة ومبدأ عمل هذه الأغشية هو مبدأ التناضح العكسي، أي عملية فصل الماء عن المحاليل المذابة بتسليط ضغوط على أسطح الأغشية للتغلب على الضغط الازموزي الطبيعي للماء. تمتاز هذه الأغشية باحتوائها على ثقب بحجم 0.001 مايكرون، أو أغشية الترشيح

الفائق (Ultra-filtration Membrane)

وأغشية الترشيح الدقيقة (Microfiltration Membrane) في اختزال وإزالة السموم البكتيرية الداخلية. أما التقنية الثانية هي عملية الامتزاز (Adsorption) التي تستخدم عادةً في إزالة واختزال الملوثات العضوية من السوائل والمياه ومبدأها انتزاع السموم من خلال عملية الامتزاز بدون تقليص للأحجام وتفكيكها (Bononi et al., 2008). تستخدم طرائق حساسة لتعيين سموم البكتيريا السالبة لصبغة كرام منها طريقتين تقليديتين هما الطريقة الحركية Kinetic Assay والطريقة الثانية طريقة تكوين الخثرة Gel clot assay

(Gee et al., 2008). هدف البحث هو استخدام تقنية المرشحات النانوية وتحديد كفاءتها في إزالة السموم الداخلية لبكتيريا *E. coli* وكيفية الاستدلال عن وجود السموم البكتيرية الداخلية في المياه التي

يعد الماء المكون الأساسي لجسم الإنسان وبدونه لا وجود للحياة، ولأن البيئة المائية هي الموطن الأمثل للعديد من الأحياء المجهرية المسببة للعديد من الأمراض وحالات التسمم وخاصة البكتيريا السالبة لصبغة كرام (Jose et al., 2005) لذا فأن استخدام مثل هذه المياه يكون تأثيرها كبيراً على المرضى المصابين بالفشل الكلوي الحاد ولهذا يجب معالجة مثل هذه المياه بمنظومات خاصة تدعى منظومات إنتاج مياه غسيل الكلى (Dialysis Machine) (Borges et al., 2007). أن نوعية مياه غسيل الكلى وغيرها من المياه التي تستخدم في المجال الطبي تعتمد بالأصل على المياه المستخدمة في إنتاجها وهي مياه الشرب الصالحة للاستعمال البشري وهي بمواصفات و محددات خاصة (Suhail, 2005). وجد أن الأحياء المجهرية غالباً ما تعيش في السوائل المتعلقة بالديليزة بسبب العديد من العوامل مثل تواجد المغذيات، ووجود مناطق لا تصل لها عمليات التعقيم المستخدمة لذا يعد التلوث البكتيري ظاهرة مهمة في أنظمة مياه الديليزة حيث تلتصق تلك الأحياء المجهرية على الأسطح الداخلية للمواد المتكونة منها المنظومة مثلاً الأسطح الداخلية للأنايبب والخزانات والمتكونة من مادة بلاستيكية Polyvinyle chloride pipe PVC، فضلاً عن ذلك عند إجراء الفحوصات البكتيريولوجية لا يظهر التقدير الصحيح لأعدادها عند إجراء التعداد الميكروبي الكلي في هذه المياه، لذا يجب استخدام فحوصات أخرى تعطي التقدير الكمي للإفرازات التي تنتج بفعل قتل هذه الأنواع البكتيرية أثناء المعاملات المستخدمة في منظومات غسيل الكلى، ومن أجل الحصول على نوعية مياه موثقة وسليمة فمن الضروري امتلاك خطة إستراتيجية لعمليات تعقيم مناسبة وفعالة وبصورة مستمرة لإنتاج مياه نقية جداً (Suhail, 2005). يلاحظ عند معاملة المياه بمثل هذه المنظومات تفقد خاصية كونها مياه تستخدم للشرب نتيجة للتقنيات المستخدمة في عملية إزالة السموم البكتيرية (Suhail, 2005). إن

تعقيم الزجاجيات الخاصة بجمع النماذج

عقمت الزجاجيات المستخدمة في عملية جمع نماذج المياه لقياس العدد الكلي البكتيري في فرن بدرجة 250 °م ولمدة 30 دقيقة، إما الحاويات الخاصة بعملية جمع المياه الملوثة بالسموم البكتيرية فهي عبارة عن أنابيب زجاجية صغيرة بحجم 10 مليلتر ذات غطاء محكم خالية من السموم البكتيرية (Depyrogenated Screw cap Tubes) وتحتوي أقل من 0.005 ml / EU من السموم، حيث اختبرت من قبل Charles River Laboratories الأمريكية (USP, 2005).

تحضير محلول السموم البكتيري للاختبار

تم اخذ 49 مايكروليتر من محلول سموم بكتيريا *E.coli* لكل 100 مليلتر من الماء اللايوني أي إضافة 98 مليلتر من محلول السموم إلى الماء اللايوني الذي يغذي منظومة أغشية التنافذ العكسي بحجم 20000 مليلتر ليساعد على عملية دفع السائل داخل المنظومة المستخدمة في عملية الإزالة. تم إجراء القياسات الفيزيائية والكيميائية للخليط (Ross, 2011).

تصميم وتنصيب المنظومة

صممت ونصبت منظومة أغشية التنافذ العكسي نوع TW30 متعددة المراحل وهي وحدة معالجة مختبرية لإغراض المعالجة البيولوجية لإنتاج مياه معقمة. تتألف المنظومة من خزان الماء المراد معالجته بسعة 20 لتر وثلاث مضخات ضغط عالي (5-6) بار وبمعدل جريان 1.2 لتر/ دقيقة وبدرجة حرارة 25 °م عند بدء التجربة مع ثلاث حاويات أغشية للتنافذ العكسي وثلاثة أغشية للتنافذ العكسي نوع TW30 أمريكية المنشأ (DOW, 2008). استخدم النمط الثابت (Batch Mode) في المنظومة المختبرية وهو عدم إرجاع الناتج المرفوض إلى خزان التغذية، إن سعة التدوير للمنظومة (Circulation Capacity) وتعني سعة إنتاج الماء المنتج النهائي تساوي 20 لتر/ ساعة وبدرجة 25 °م. تم ربط المنظومة بشكل متسلسل على

تستخدم في المجال الطبي والتقصي عن الطرائق المثلى للكشف عنها.

المواد وطرائق العمل**تحضير المحلول القياسي لسموم بكتيريا *E. coli***

نميت بكتيريا *E.coli* المشخصة باستخدام تقنية 2 - Viteck Compact (David, 2009). في التجربة الأولى تم تلقیح المرق المغذي السائل Nutrient Broth المعقم بحجم 250 مليلتر بـ 3-2 مستعمرة، حضن في حاضنة هوائية في درجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة. تم عمل تخافيف عشرية للعالق البكتيري لقياس الكثافة البكتيرية حيث تم مقارنة أنبوبة العالق البكتيري بمحلول مكفرلاند Mcfarland Solution والذي عادل الأنبوب رقم 0.5 من أنابيب محلول مكفرلاند والذي يحوي على $10^8 \times 1.5$ خلية /مليلتر الذي أعطى طيف امتصاص مقداره 0.3 بطول موجي 450 نانوميتر عند قياسه بجهاز المطياف الضوئي

(أحمد وآخرون، 2008). أما في التجربة الثانية فلفح المرق المغذي السائل Nutrient Broth المعقم بحجم 250 مليلتر من بـ 1-2 مستعمرة، أجريت المعاملات اعلاه مع اختلاف في قراءة طيف الامتصاص مقداره 0.2 بطول موجي 450 نانوميتر (أحمد وآخرون، 2008). تم الحصول على المحلول القياسي البكتيري لكلا التجريبتين و قتل العالق البكتيري باستخدام المعقم بدرجة حرارة 125 °م ولمدة 30 دقيقة وبضغط 1.5 بار/ جو للحصول على سموم بكتيريا *E.coli* (USP, 2005).

تهيئة وتحضير الماء المزال منه الايونات (اللايوني)

الماء المغذي للمنظومة المراد اختبار كفاءتها في إزالة السموم البكتيرية الداخلية عبارة عن ماء إسالة (Tap water) تم تقطيره بعملية التقطير (Distillation) وإزالة الايونات منه بعملية (Deionization) للحصول على مياه نقية وخالية من أي تلوث بكتيري.

الملوثة بالسموم خلال المرشحات النانوية المستخدمة تم إجراء فحص السموم البكتيرية الداخلية لعينات المياه الناتجة التي لم يعمل التخفيف لها ولكلا التجريبتين. أن حساسية الكارتلج المستخدم في اختبار قياس تراكيز السموم البكتيرية السالبة لصبغة كرام تتراوح من 0.05 - 5.0 EU/ ml قبل وبعد عملية الإزالة (FDA, 2003). تم قياس محتوى السموم لكاشف (LRW) المستخدم في عملية تخفيف عينات المياه قبل وبعد عملية الإزالة من قبل الشركة أعلاه وكانت اقل من 0.001 < EU/ ml.

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج التجربة الأولى لقياس تركيز السموم البكتيرية الداخلية لبكتيريا *E. coli* قبل عملية الإزالة بتركيز يساوي 50.0 EU/ ml، أما العدد البكتيري الكلي للأطباق لم يظهر أي نمو، لوحظ بعد إمرار المياه الملوثة بالمرشحات النانوية إزالة لتراكيز السموم البكتيرية الى 0.05 EU/ ml. أما تراكيز السموم البكتيرية في التجربة الثانية كانت قبل عملية الإزالة تساوي 18.1 EU/ ml وبعد الإزالة أصبحت (Ross, 2011) 0.05 EU/ ml. تفاوتت نسبة إزالة السموم الداخلية في التجريبتين من 99 % 36 - نتيجة الاختلاف في كمية اللقاح البكتيري لبكتيريا *E. coli* لإفراز تلك

السموم. أظهرت تراكيز السموم الداخلية إزالة إلى ما دون المحددات القياسية العالمية للمياه المنتجة النهائية من منظومات غسيل الكلي هي 2 EU/ ml لقياس تراكيز السموم البكتيرية الداخلية لبكتيريا السالبة لصبغة كرام و 200 Colony Forming Unit / ml للأعداد البكتيرية وكما هو مثبت في وثيقة Association for the Advancement of Medical Instrumentation Standard (AAMI, 2004). يعمل غشاء التنافذ العكسي كمانع لكل العوالق الذائبة والجزيئات اللاعضوية وهذا ما أظهرته نتائج الإزالة في كلا التجريبتين حيث وصلت نسبة الإزالة للأملاح الذائبة والمواد العالقة والتوصيلية من 81- 98 %.

التوالي بحيث يكون ناتج الخلية الأولى يغذي الخلية الثانية وهكذا.

الماء المنتج النهائي

جمع الماء المنتج من المرحلة الأخيرة وهو الماء المنتج النهائي (Product Water). الماء المرفوض (Rejected Water) فيخرج كناتج عرضي بعد رفضه من الخلية الأخيرة لاحتوائه على الملوثات التي أزيلت. أجريت الفحوصات الكيمياوية والفيزياوية المتمثلة بالعمورة (Turbidity) والمكونات الذائبة الصلبة (Total Dissolve Solid) والتوصيلية (E.C) والذالة الحامضية (pH) ودرجة الحرارة. فضلاً عن الفحوصات البكتيريولوجية المتمثلة بالعدد الكلي البكتيري (T.P.C) وبمعدل ثلاث مكررات للأطباق لكل تجربة للمياه المغذية للمنظومة وللماء النهائي المنتج. استخدمت مادة الفورمالين المخففة بحجم 0.5 مليلتر / 100 مليلتر لحفظ أغشية المرشحات المستخدمة ولمنع النمو البكتيري عليها. تعد مادة الفورمالين من المواد غير المؤكسدة وتستخدم للأغشية الحساسة ثم يتم غسل المنظومة بالماء المقطر أو بالماء المنتج النهائي عدة مرات (Liikanen, 2006).

قياس السموم البكتيرية السالبة لصبغة كرام

قيست تراكيز السموم البكتيرية لبكتيريا *E. coli* باستخدام جهاز (PTS) المصنع من قبل Charles River Laboratories الأمريكية مع كارتلجات لقياس السموم البكتيرية السالبة لصبغة كرام Limulus Amebocyte Lysate (LAL) Test Cartridges، من خلال اخذ عينات من المياه الملوثة بالسموم بحجم 250 مليلتر لإجراء الفحوصات البكتيريولوجية والمتمثلة بقياس العدد الكلي البكتيري (T.P.C)، واخذ نموذج بحجم 10 مليلتر لقياس تركيز السموم البكتيرية الداخلية لبكتيريا *E. coli* حيث تم عمل تخفيف عشري للعينة 10^1 أي 1 مليلتر من عينة المياه الملوثة إلى 9 مليلتر من كاشف (LRW) (LAL Reagent Water) ولكلا التجريبتين قبل إجراء عمليتي الإزالة وبعد إمرار المياه

البكتيري وإزالة جميع الملوثات التي تعوق عمل أغشية المرشحات وتسد القنوات الضيقة في الخلايا من دخول المياه إلى مجمع الأغشية (Ross,2011). إن السبب في استخدام هذه النوعية من أغشية المرشحات النانوية لمعرفة قدرتها وكفاءتها في إزالة سموم بكتيريا *E.coli* وإنتاج مياه ذات نقاوة عالية وصالحة للاستخدام الطبي، وذلك لحماية أفضل لعدم تكون المركبات الثانوية Disinfection by Products (DBPs) والتي يكون مصدرها المواد العضوية ومواد أخرى والتي تتواجد بصورة طبيعية في مياه الشرب التي استخدمت في تغذية المنظومة قبل إجراء عمليتي التقطير بسبب عمليات جدول(1) الفحوصات لتراكيز السموم الداخلية والأعداد البكتيرية لبكتيريا *E.coli* قبل وبعد عمليتي الإزالة

التجربة الثانية قبل الإزالة	التجربة الأولى قبل الإزالة	الفحوصات المختبرية للمياه
10	10	التخفيف المستخدم للعينة
18.1	50.0	تركيز السموم EU / ml
1	0	العدد البكتيري الكلي T.P.C
التجربة الثانية بعد الإزالة	التجربة الأولى بعد الإزالة	الفحوصات المختبرية للمياه
1	1	التخفيف المستخدم للعينة
0.05	0.05	تركيز السموم EU / ml
0	0	العدد البكتيري الكلي T.P.C
36	99	نسبة المثوية للإزالة اليومية %

جدول(2) الفحص الكيمياوي للمكونات المذابة الصلبة ودرجة الحرارة قبل وبعد عمليتي الإزالة.

التجربة الثانية		التجربة الأولى		الفحوصات المختبرية للمياه
بعد	قبل	بعد	قبل	
1	75	3.8	36	المكونات المذابة الصلبة مايكروغرام/ملييلتر
98		89		نسبة إزالة اليومية %

أظهرت نتائج الفحوصات الكيمياوية في اليوم الأول قبل عملية الإزالة للعكورة N.T.U 43.2 والتوصيلية 74.6 مايكروسمنز/ سم، أما المكونات الصلبة الذائبة فكانت تساوي 36 مايكروغرام/ملييلتر والدالة الحامضية 7.91 وبعد إجراء عملية المعالجة للمياه الملوثة انخفضت العكورة إلى N.T.U 0.65 والتوصيلية إلى 9.07 مايكروسمنز/ سم والمكونات الصلبة الذائبة T.D.S إلى 3.8 مايكرو غرام /ملييلتر والدالة الحامضية 6.01. أما نتائج اليوم الثاني لعملية الإزالة فكانت كالأتي قبل عملية الإزالة للعكورة N.T.U 3.06 والتوصيلية 125.4 مايكروسمنز/ سم، أما المكونات الصلبة الذائبة فكانت تساوي 75 مايكروغرام /ملييلتر والدالة الحامضية 7.91 وبعد إجراء عملية المعالجة للمياه الملوثة انخفضت العكورة إلى 0.58 N.T.U و التوصيلية إلى 2.4 مايكروسمنز/ سم والمكونات الصلبة الذائبة T.D.S إلى 1 مايكرو غرام /ملييلتر والدالة الحامضية 6.14. بينت نتائج الإزالة للعكورة والتوصيلية والمكونات الصلبة الذائبة نسب إزالة واضحة 81 - 98 % ، 88 - 98 % ، 89 - 98 % وعلى التوالي بسبب خصائص تقنية التناضح العكسي ونوعية الأغشية المستخدمة (DOW,2008). نتائج الإزالة للمكونات الصلبة والعكورة والتوصيلة كانت جيدة وضمن المحددات العالمية لإنتاج المياه الطبية (AAMI,2004). أظهرت نتائج الإزالة استقرار في مدى الدالة الحامضية و ضمن حدود تقنية الترشيح بالتناضح العكسي من 6.01 - 8.33 (Yosuke et al.,1986). وكما واضح من النتائج جدولين(2 و3). استخدمت عملية التقطير لإنتاج الماء اللايوني وهي طريقة فعالة لإزالة وتقليل من المشاكل النوعية الكيمائية لمياه الشرب التي استخدمت في تزويد المنظومة التي يراد اختبار كفاءتها في إزالة السموم الداخلية لبكتيريا *E.coli* بالمياه وتعد كمعالجة أولية لها من خلال إزالة الأيونات وأيضاً لضمان خلو المياه من التلوث

دقيقة من بدء عملية الفحص وتعد طريقة قياس لونية لوجود المواد الأساس الصناعية والمواد الأساس اللونية وهي تجعل عملية الفحص أسرع و بوقت اقل فضلاً عن كون الجهاز له قابلية خزن نتائج الفحوصات السابقة. أن النتائج المحصل عليها للسموم البكتيرية بهذه الطريقة هي نتائج كمية (FDA,2003). فضلاً عن أن دقة حساسية الكارتلج المستخدم في الجهاز لقياس السموم الداخلية للبكتيريا السالبة لصبغة كرام هي 0.05 EU/ml وتعد دقة متناهية في القياس وأفضل دقة قياس من الطرائق التقليدية المستخدمة لقياس السموم البكتيرية الداخلية و اقل من المحددات العالمية القياسية لقياس تلك السموم (Gee et al.,2008).

الاستنتاجات والتوصيات

- 1- الدقة المتناهية في مستلزمات ومتطلبات عمل المنظومات الخاصة لانتاج مياه معقمة من حيث تنظيم فترات الخاصة بتعقيم وحفظ الاغشية للحفاظ على نوعية المادة الاولية للمرشحات النانوية المستخدمة.
- 2- التقييم اليومي والمستمر للمياه المغذية والنواتجة لاجراء الفحوصات الميكروبية والسمية بنوعها البكتيرية والكيميائية.
- 3- التوسع في دراسة السموم الاحيائية وخاصة السموم البكتيرية من خلال الكشف والمعالجة، مع التوصل الى طرائق كشف سريعة للسموم.

التعقيم المستخدمة حيث تستخدم طريقة التعقيم بالأشعة فوق البنفسجية بعد عملية الترشيح والإزالة (Singer,1999). إن المبدأ المعتمد لقياس تراكيز السموم في جهاز PTS هو مبدأ الطريقة التقليدية الحركية للمواد الأساس اللونية Kinetic Chromogenic Assay (KCA) وتعني قياس نسبة حاملات اللون Chromophores المطروحة من المادة الأساس الصناعية Synthetic Substrate أو المادة الأساس اللونية Chromogenic substrate وهذه الطريقة تمتاز بدقة حساسية لقياس السموم البكتيرية تساوي 0.1 EU/ml ، وطورت الطريقة التقليدية السابقة باختزال جميع المواد المستخدمة في الفحص من السموم القياسية وكواشف LAL والمواد الأساس الصناعية أو المواد المنتجة للألوان بشكل جاف في كارتلج واحد مفرد والمستخدم في جهاز (PTS) وهو عدة سهلة الحمل وأداة ضبط حراري تحوي على نظام ضخ للعينات داخل الجهاز حيث تمرر العينة المراد اختبارها بقنوات خاصة تحوي السموم القياسية والكواشف والمواد الأساس الصناعية حيث يحوي الجهاز على نظام عد ثنائي يعتمد عمله على أساس قياس التغيرات اللونية الحاصلة للمواد الأساس عن طريق قراءة الامتصاصية مع تراكيز السموم المراد قياسها ويطول موجي 395 نانوميتر لاحتوائه على الخلية العينية Optical cell ويتم الحصول على نتيجة الفحص خلال 15-20

جدول(3) الفحص الكيماوي للتوصيلية والدالة الحامضية قبل وبعد عمليتي الازالة.

الدالة الحامضية	نسبة إلزالة اليومية %	العكورة		نسبة الخفض اليومي %	التوصيلية مايكروسيمنز/سم		الفحوصات المختبرية للمياه
		قبل	بعد		قبل	بعد	
6.01	98	43	0.65	88	9.07	76.4	التجربة الأولى
6.14	81	3.06	0.58	98	2.4	152.4	التجربة الثانية

Endotoxin in Cell Therapy Product. National Institutes of Health.10 (4), 427-435.

Jose, D.e.; Lima, R. O.; Sirley, G. M.; Azizedite, G.; Gonçalves, N.; Salgado, F.; Paulo, C. N.; Hernandez, S. S.; Silvio, G. M. and Jackson, M. L. C., (2005) Microbiology Services in SAO Luis, Maranhao. Brazilian Journal of Microbiology.36, 103-108.

Liikanen, R., (2006) Nanofiltration as a Refining Phase in Surface Water Treatment Technology Water and Waste Water. Engineering Laboratory of Helsinki University.35, 23-27.

Ross, A. ,(2011) Removal of Endotoxin from Deionized Water Using Micro Machined Silicon Nanopore Membrane. Journal of Micro Mechanics and MicroEngineering.21 (5), 7.

Singer, P.C.,(1999) Humic Substance as Precursors for Potentially Harmful Disinfection by Products. Water Science and Technology. 40, 25-30.

Suhail, A.,(2005) Essentials of Water Treatment in Hemodialysis. Hemodialysis International.9, 127-134.

United States Pharmacopeia USP ,(2005) Bacterial Endotoxin Test <85>. General Chapter. Clinical. Inc. Official. 29,1-9.

Yosuke, S.; Reiko, F.; Ikuo, I.; Atsushi, K.; Teruo, K. and Makoto, N.,(1986) Removal of Endotoxin from Water by Microfiltration Through a Microporous Polyethylene Hollow-fiber Membrane. Applied and Environmental Microbiology.51 (4), 813-820.

المصادر

احمد، سهاد عدنان. (2005). دراسة الفعالية التثبيطية لمستخلصات نبات المرمية في نمو بعض أنواع البكتيريا المرضية. المجلة العراقية للتقانات الإحيائية. 7(1)، 51-63.

Association for the Advancement of Medical Instrumentation Standard and Recommendation Practices, A.A.M.I / D.S1R.D52. ,(2004) Water Treatment Equipment for Hemodialysis Applications American National Standard, 1-28.

Bononi, I.; Balatti, V.; Gaeta ,S. and Tongan, M.,(2008) Gram Negative Bacterial lipopolysaccharide Retention by Positively Charged New Generation Filter. Applied Environmental Microbiology.74(2),6470-647.

Borges, C. R. M.; Lascowaski, K. M. S.; Filho, N.R.; and Pelay, J.S.,(2007) Microbiological Quality of Water and Dialysate in a Hemodialysis Unit in Ponya Grossa P.R. Journal of Applied Microbiology.103, 1791-1797.

David, H. P.,(2009) Microbial Identification Using the Bio Merieux Vitek -2 system. Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods. BioMerieux, Inc. Manual,3-10.

DOW Chemical Company,(2008) Filmtec Membranes. Basics of Reverse Osmosis and Nanofiltration Membrane Description Manual,1-2.

Food Drug Association FDA,(2003) The Endosafe P.T.S.tm Portable Test System. Charles River Labroteries, 1-3.

Gee, A.P.; Sumstad, D. and Stanson, J., (2008) A multi Center Comparison Study Between the Endosafe P.T.S. Rapid Release Testing System and Traditional Test Methods for Detection