

(15) 自然水中におけるウイルスの死滅速度

DECAY CONSTANT OF VIRUSES IN NATURAL WATERS

住 友 恒*

Hisashi SUMITOMO*

ABSTRACT ; For the purpose of leveling up safety in water supply, the quantification of virus concentration in water resource is required, and one of the most important basic data required for the quantification or the quantitative prediction is the decay constant of virus in natural water. Therefore, the natural decay or inactivation of Coxsackie-B virus is observed and measured in a circulative channel (diameter 40cm, width 10cm, depth 20cm) in a laboratory. The experimental conditions are controlled in temperature and sunlight. The former is by a regulative heater and the latter is by a window shutter. The results are summarized in the following forms as $k_\theta = k_{20} (1.175)^{(\theta-20)}$, $k_{20} = 1.41$ (in sunlight condition) and $k'_\theta = k'_{20} (1.143)^{(\theta-20)}$, $k'_{20} = 0.87$ (in dark condition), where k_θ is the decay constant (1/day) in the first order reaction under the temperature θ (°C). The mechanism of the inactivation is also briefly discussed in this paper.

KEY WORDS ; Virus, Decay Constant, Temperature Effect, Sunlight Effect, Circular Channel

1. はじめに

上水の飲用に伴う肝炎の伝染や水泳中の飲水に伴う下痢の発生などはその病原となるウイルスが自然水中に放流される機会が多いことおよび比較的長期間にわたって生存することが原因と知られている。これら病原性のウイルスの発生源が多くは人の糞便であるところから、発生源での処置として、下水の処理過程で極力これらを除去・不活化することの重要性はいうまでもない。しかし、そこでの最も実用的な方法ともいべき塩素処理にもトリハロメタンの発生など一定の制約がある。したがって、少量のウイルスは病原としての活性を持った状態で自然水中に放出され、自然水中を流下しているものとの前提にたち、その影響を科学的に正確に評価し、対処してゆくことが重要である。^{1), 2), 3)} 本報告は、自然水中でのウイルスの挙動を定量的に把握する上で最も基礎となるウイルスの自然水中での死滅速度を実験によって調べ、上記の科学的評価と対応に資せんとしたものである。

2. 自然水中のウイルス濃度の評価法

ウイルスは生きた宿主細胞と共存してはじめて増殖する。したがって宿主細胞が存在しないと考える自然水中では増殖を考えず、死滅のみを考慮するのが一般的である。その死滅速度はそこに存在するウイルス量に比例するものと考え、一次反応型で表現するのが一般的である。

たとえば、湖のような二次元流ではウイルスの変化を表わす式として次式を採用することができる。

$$\frac{\partial c}{\partial t} + u \frac{\partial c}{\partial x} + v \frac{\partial c}{\partial y} = D_x \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} + D_y \frac{\partial^2 c}{\partial y^2} - kc \quad (1)$$

ここで、 c がウイルス濃度、 u, v は x, y 方向流速、 D_x, D_y は x, y 方向拡散係数、 k がここで取り上げてい

* 京都大学工学部衛生工学教室・工博・教授

る死滅速度定数， t は時間である。上式によって，筆者らの研究グループではびわ湖南湖におけるウイルス濃度の推定を試みているが，流入河川からのウイルス流入量を各河川の大腸菌群数の $1/10^5$ とみなした時の湖内の分布を求めている⁴⁾。一例として， $D_x=D_y=1.0\text{m}^2/\text{sec}$ =一定とみなし， $k=0.1/\text{日}$ ， $k=1.0/\text{日}$ とした時の結果をたとえば図-1，図-2のように示している。このウイルス死滅速度についてはクラークらによる表-1のような報告がある⁵⁾。ただし，これらの値は99.9%減少に要する平均日数に関するデータを筆者が次式によって k 値に換算したものである。

$$\frac{dc}{dt}=-kc, \quad k=-\frac{1}{t_0} \cdot \ln\left(\frac{c}{c_0}\right)$$

(2)

ここで t_0 は減少率が (c/c_0) となる日数である。また，式(1)の k と式(2)の k は厳密には区別して表示されるべきと考えるがここでは以下に一括して k で表示する。

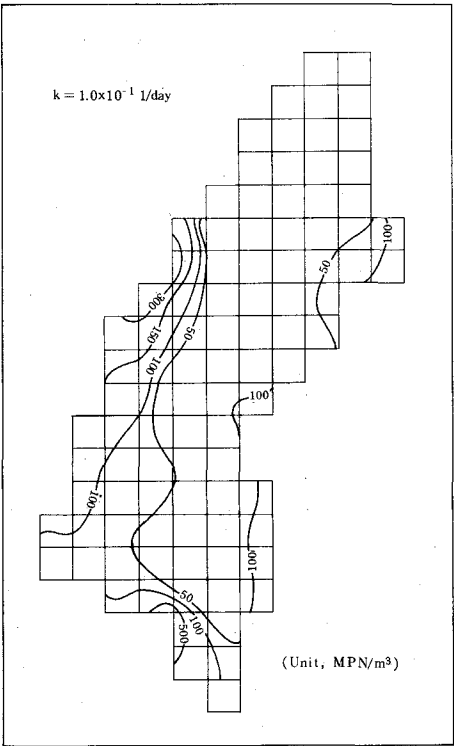


Fig. 1 Estimated Virus Concentration in the Southern Part of the Lake Biwa (1)

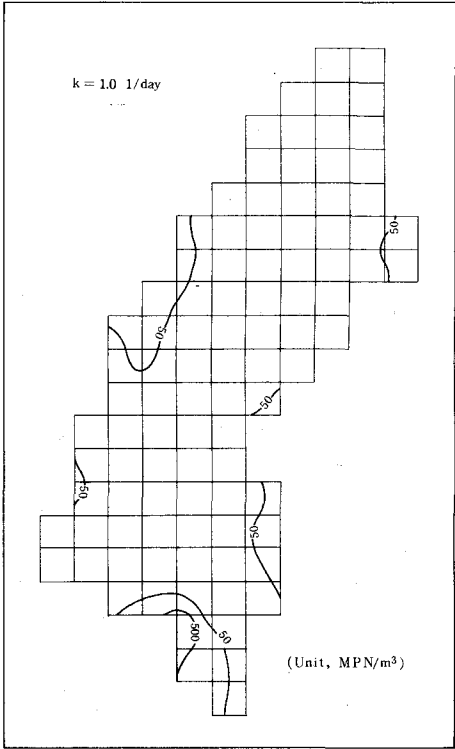


Fig. 2 Estimated Virus Concentration in the Southern Part of the Lake Biwa (2)

表-1 ウイルス，細菌の死滅定数， k 値（1/日）

微生物		きれいな水			中程度に汚染された水			下水		
		28℃	20℃	4℃	28℃	20℃	4℃	28℃	20℃	4℃
ウ	ポリオ (1)	0.406	0.345	0.256	0.628	0.531	0.364	0.406	0.300	0.063
イ	エコー (7)	0.576	0.432	0.266	1.382	0.987	0.461	0.247	0.168	0.053
ル	エコー (12)	1.382	0.576	0.209	2.303	1.382	0.364	0.345	0.216	0.115
ス	コクサッキー (A9)	0.863 以下	0.863 以下	0.691	1.382	0.863	0.345	1.151	—	0.576
大腸菌		1.151	0.987	0.691	1.382	1.382	0.628	0.576	0.345	0.144

表-1から明らかなことは1) ウイルスの死滅速度は大腸菌のそれと大差がないこと、2) 温度が高い程死滅が早く、その定数値は大きいこと、3) 死滅速度はウイルスの種類によって差異があること、および4) 概してきれいな水か下水のように極度に汚染された水でk値が小さく、死滅速度が遅いことである。しかし、一般には一例として図-3に示すように浮遊物質が含まれている水中では死滅速度が遅く、ウイルスは長く生存するものと考えることができるようである。⁶⁾

したがって、式(1)あるいは式(2)に表-1の値を活用すれば自然水中のウイルスの挙動をひとまず評価することができる。

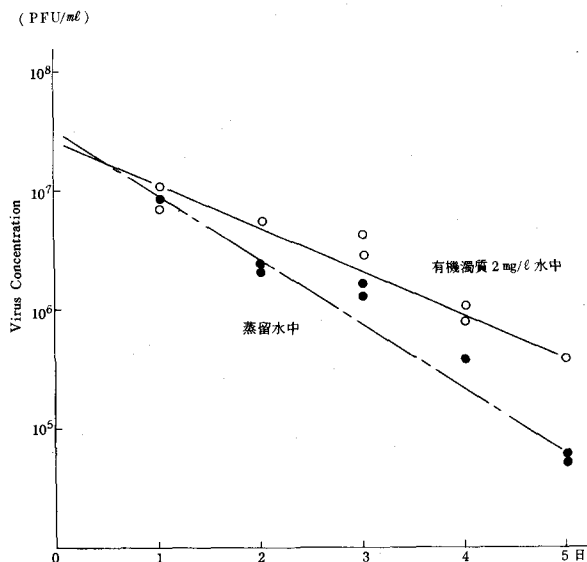


Fig. 3 Virus Decay in Turbid Water

3. ウイルスの自然水中での死滅速度に関する実験

3.1 実験概要

これまでの報告では自然水そのものを用いた実験や流れの状態での実験が少ないので、ここではびわ湖南湖の表層水を用いて循環円型水路(ドーナツ型)を用いて自然の流れの状態を再現しつつ、そこでのウイルスの死滅速度を実測することにした。水温を種々の段階に設定した上で、室内暗所における場合と窓側で日光を自然の状態で当てた場合との対比を行った。自然の日光を当てた場合は一日を通じて水温が変化するのでそれぞれ一実験期間中の平均水温で水温を代表させ、冬期から夏期にかけてのいろいろの温度条件下での結果を示す。一方、暗所での実験は上記の自然の状態とは異なり、強制的に温度を一定値に制御したものである。

3.2 実験条件

- 1) 実験装置および実験方法；図-4に示すような循環円型水路(10 cm巾×20 cm深長方形断面)に実験の都度びわ湖南湖表層水(打出浜沿岸部)を水深が10 cmになるよう満たし、ここに凍結保存中のコックスッキーウイルスB5(CB-5/F/64/78)がほぼ10³ MPN/mlになるよう注入し、経時的にウイルス濃度の変化を定量した。円型水路内には2ヶ所上部固定のそ流板を設置し、水路自体を1.0 rpmで回転させることによって水路内に乱れを発生させ、相対的な乱流を再現した。当然水路底への沈殿現象は認められない。
- 2) ウイルス濃度の測定法；ウイルス濃度の測定はPFU(Plaque Forming Unit)単位あるいはTCID₅₀などの単位で計測するのが一般的であるが、ここでは若干精度を犠牲にしても少しでもデータ数を多くしようとして大腸菌の推定・確定試験と同様にチューブ法によるMPN(Most Probable Number)法で定量化した。¹⁾すなわち、継代培養中のHela細胞を用いて、これを培地とする3本法でウイルス濃度

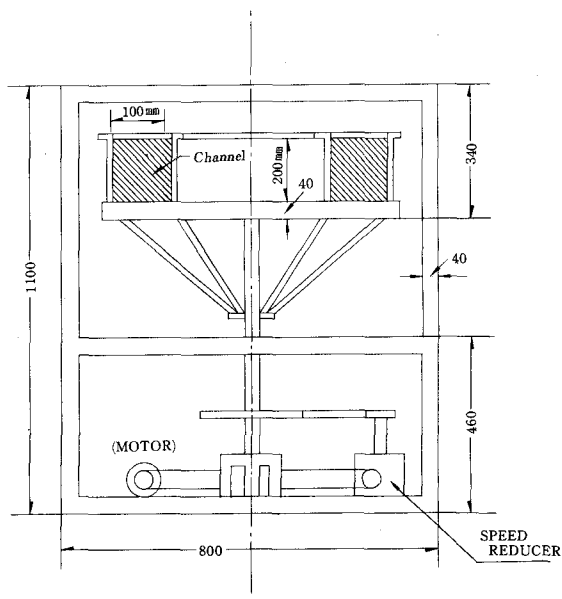
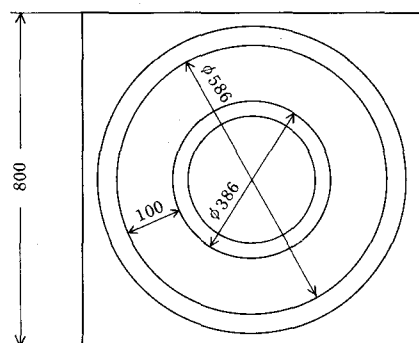
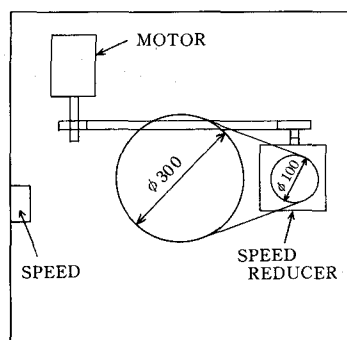


Fig. 4 Circulated Channel (1) Elevation



Upper Part



Down Part

Fig. 4 Circulated Channel (2) Plan

を定量化した。

3.3 実験結果；暗所条件下および自然光条件下それぞれでの結果の一例を示したのが図－5および図－6である。結果のパラツキの程度や全体的な傾向を両図で示しているが、いずれにおいても一次反応の成立をほぼ認めうる点が特徴である。このようにして得られた全結果を一括して表示したのが図－7である。この図から明らかなように、自然光条件下での死滅定数が暗所条件下でのその1.3～2.0倍程度大きな値となっている。また、いずれも片対数紙上、水温とほぼ直線関係が認められ、BODに関する一次反応定数が水温によって次式で表示されるのと対比できる。

$$\text{BOD}; k_{\theta} = k_{20} (1.047)^{\theta - 20} \quad (3)$$

ここで、 θ は水温 ($^{\circ}\text{C}$) で、 k_{θ} , k_{20} は水温 $\theta^{\circ}\text{C}$, 20°C におけるそれぞれの反応定数値である。図－7に得られた結果を式(3)の型で表示したのが次式である。

$$\text{自然光条件下}; k_{\theta} = k_{20} (1.175)^{\theta - 20}, \quad k_{20} = 1.41 \text{ (1/日)} \quad (4)$$

$$\text{暗所条件下}; k'_{\theta} = k'_{20} (1.143)^{\theta - 20}, \quad k'_{20} = 0.87 \text{ (1/日)} \quad (5)$$

式(3),(4),(5)の関係を普通目盛紙上に表示したのが図－8で、ウイルスの死滅はBODの変化に対比して水温にきわめて敏感である点が特徴といえよう。特に 25°C を超える夏季の自然水中でウイルスがきわめて急速に死滅することが注目され、夏季にはウイルスの人体からの排泄が多いことが知られているが、自然水中ではその温度を主な原因として急速に死滅しているものと理解できる。

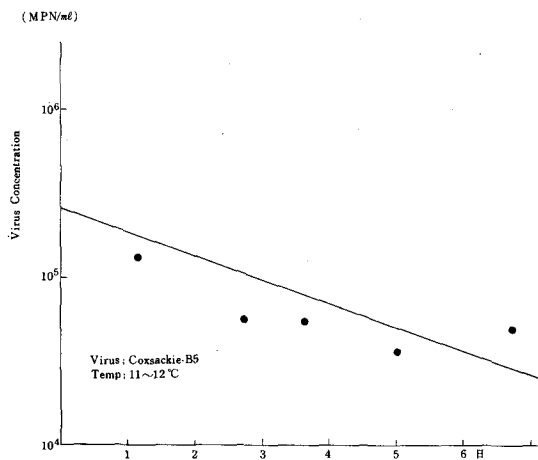


Fig. 5 An Example of Virus Decay in Circular Channel under Dark Condition

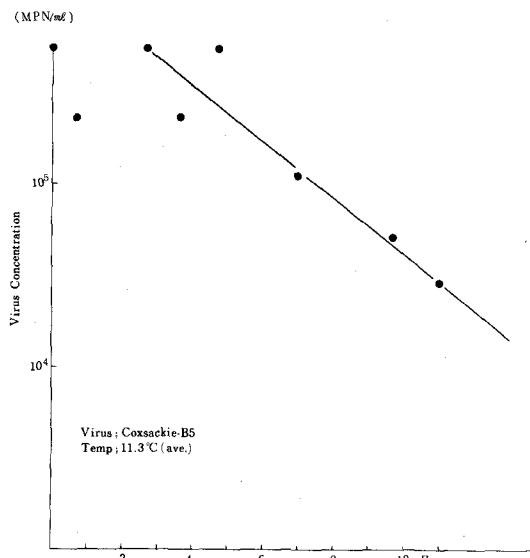


Fig. 6 An Example of Virus Decay in Circular Channel under Sunlight

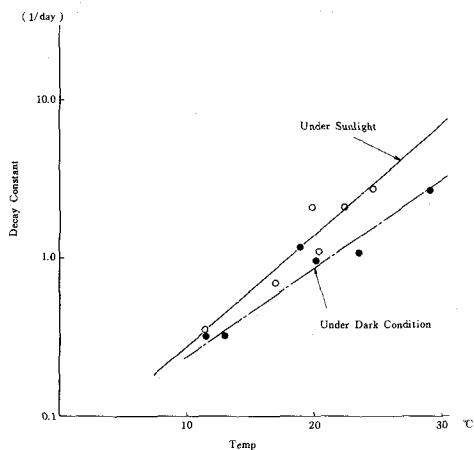


Fig. 7 Decay Constant of Virus (Coxsackie-B5) in Natural Water

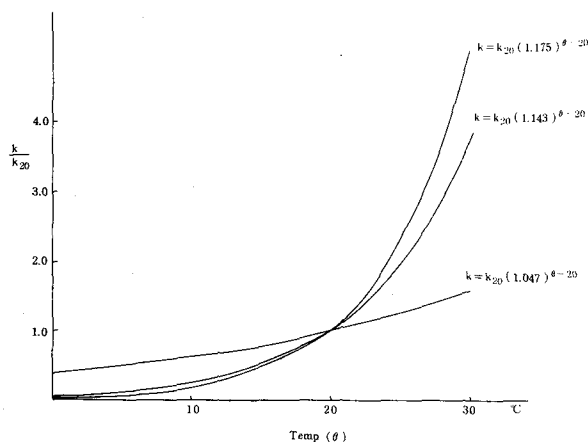


Fig. 8 Relation between Decay Constants and Temperature

- 3.4 結果の考察；死滅速度が水温によって変化するという上記結果を若干基礎的に考察してみると以下のよう

に指摘することができるのである。

速度定数に関するArrheniusの式は次式で表わされる⁷⁾

$$\frac{d \ln k}{dT} = \frac{E_0}{RT^2} \quad (6)$$

ここで k は速度定数、 E_0 は活性化エネルギー、 R は定数、 T は絶対温度である。この式を用いて水温が θ (°C) と 20 (°C) における速度定数を対比すれば、次式を得る。

$$k_\theta = k_{20} (e^\alpha)^{\theta-20}, \quad \alpha = \frac{E_0}{R(\theta+273)(293)} \cong \alpha_0 E_0 \quad (7)$$

したがって、先の式(4)、(5)の結果を対比すれば、 α_0 を近似的に定数とみなした上で自然光条件下での活性化エネルギーを E_0 (光)、暗所条件下でのそれを E_0 (暗)と表示するとき、次式を得る。

$$\frac{E_0(\text{光})}{E_0(\text{暗})} \cong 1.21 \quad (8)$$

いま、 E_0 を死滅損傷の感受性と考えれば自然光によってその感受性が20%近く増大するものとも考えられ、一般生物における酵素阻害のような光による損傷機構を今後さらに究明してゆく必要があるものと類推される。なお、式(7)で速度定数に及ぼす自然光と温度の寄与率について調べてみる。まず式(7)から次式を得る。

$$dk_\theta = k_\theta \alpha_0 E_0 d\theta + \left(\frac{k_\theta}{k_{20}} \cdot \frac{\partial k_{20}}{\partial E_0} + k_\theta \alpha_0 (\theta - 20) \right) dE_0 \quad (9)$$

$\theta = 20^\circ\text{C}$ で評価するために上式よりつぎの近似式をえる。

$$\begin{aligned} \frac{dk_\theta}{k_\theta} &= \alpha_0 E_0 d\theta + \frac{1}{k_{20}} \cdot \left(\frac{\partial k_{20}}{\partial E_0} \right) dE_0 \\ &\cong (\alpha_0 E_0) d\theta + (dk_{20}/k_{20}) \end{aligned} \quad (10)$$

いま $\alpha_0 E_0$ 値および自然光の有無が k_{20} 値に及ぼす影響を 20°C 、暗所を基準として評価すれば式(4)、(5)の結果からつぎの関係を得る。

$$\frac{dk_{\theta=20}}{k_{\theta=20}} = \ln(1.175) d\theta + \frac{1.41 - 0.87}{0.87} \cong 0.16 d\theta + 0.62 \quad (11)$$

結局、自然光の有無は $\theta = 20^\circ\text{C}$ から $\theta = 25^\circ\text{C}$ の範囲で $d\theta = 3.9^\circ\text{C} \cong 4^\circ\text{C}$ の増加とほぼ等価であり、両者の効果が増加されることがわかる。

4. おわりに

本報告の成果は図-7の結果を示しえたことであり、多くの問題を今後に残している。特に、実験時のびわ湖表層水の水質値を定量化していない点が厳密には問題となるが、研究の現段階では逆にここに得られた結果をわが国における多くの表流水中でのウイルスの死滅定数の概略値として活用すればよいと考えている。

また、結果の考察で示した活性化エネルギーに関する検討結果も現段階ではあまり大きな意義を持たない。ただ、今後一定の人工照射光の強度を変えた実験からウイルスの不活化機構に接近しうること示唆したつもりである。そしてその延長上に紫外線照射による不活化をも統一的に論じうることを念じている。また、今後の研究について付言すれば、やはり浮遊物質が存在する条件下での k_{20} に関する実験がより重要で、ウイルスの自然水中での生棲形態と死滅速度の関係を細孔内拡散係数などを用いてでも定量化してゆくことがより緊急を要するものと考えている。

最後に、筆者の実験に対し、日ごろ多角的に御助言、御協力をいただいている京大ウイルス研究所今井浄子理学博士に謝意を表わす。また、実験実施上の安全管理に関連し、種々御協力を賜わっている京大衛生工学教室関係各位にこの機会を借りて御礼を申し上げる。

参考文献

- 1) 住友、今井；浄水操作によるウイルスの除去・不活化実験，日本水道協会雑誌№ 569 昭和55年5月
- 2) 住友、徳田、今井；浄水処理におけるウイルス除去の実験，第31回全国水道研究発表会講演集 昭和55年5月
- 3) 住友、徳田、今井；水中ウイルスの濃縮計測について，第一報，第二報，京都大学環境衛生工学研究会，第1回，第4回シンポジウム 昭和54年12月，57年8月
- 4) 尾崎；水系ウイルスの評価と定量化に関する研究，京都大学卒業論文 昭和57年3月
- 5) 山村；水質環境アセスメントのための基礎資料集，月刊水発行所 昭和52年3月

(Clarke, Berg, Kableu, Chang; Human Enteric Viruses in Water, 9th, Conf. of Water Pollution Research, London, 1962.)

- 6) 金子, 五十嵐 ; 水道におけるウイルスの対応に関する考察(Ⅱ), 第30回全国水道研究発表概要集
54年5月
- 7) Moore 著, 藤代訳 ; 物理化学, 東京化学同人 1974年9月