各季节生活污水中病毒的含量及种类

洪陶 蒋慧惠* 严惠琴 李洁

（上海医科大学卫生微生物教研室）

提 要

本文报道了作者对上海县生活污水中病毒含量进行的一次研究，用吸附洗脱法浓缩水样，用空斑法检测病毒含量，用微量中和试验鉴定病毒种类，用温度敏感试验测定病毒毒力，生活污水中病毒含量在320～176000pfu／升之间，以秋季含量最高，污水中肠道病毒以脊髓灰质炎病毒为主，其中多数为减毒株。

对于水病毒的研究，我国起步较晚，直到80年代初才开始这方面的工作，而有关污水中病毒含量的系统性监测，尚未有报道。本文总结了我们对上海县生活污水中病毒含量及种类进行的一次研究，主要目的是了解病毒在污水中是否存在，含量多少，它们在各不同季节含量是否一致，有哪些种类。

设计与方法

水样采自上海县污水处理厂进厂原水，从1984年1月到1985年1月分4个季度采样，每季度集中在一周内采样三次，每次取水样10000 ml。

（一） 水样中病毒浓缩方法

水样（10000ml）加 $AlCl_3$1250mg，用一层玻璃纤维膜加二层混合纤维树脂膜（直径150mm，孔径0.45μ），取以上水样负压抽滤，待水样全部滤过后，取滤膜用pH10的3%牛肉浸膏50ml洗脱30分钟，取洗脱液用HCl将pH调至3.5左右，待絮凝出现后离心弃上清液，留取沉淀，加抗菌素适量，调pH至7.0左右，置－40℃低温冰箱保存，留待用空斑法测定病毒含量。

（二） 浓缩样本中病毒含量测定

用BGM细胞系，待测样品先用Eagles液稀释成 10^{-1}，10^{-2}，10^{-3}，每一稀释度接种二小瓶细胞，同时另设正常细胞对照和阳性 polio Ⅰ 型对照。用已发表的方法[1]做空斑试验，测定病毒含量。

（三） 病毒的分离及鉴定

从部分空斑中挑出病毒，接种BGM细胞连续传代，分离出的病毒先用医科院生物学研究所提供的Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ型单价抗Polio标准血清用中和试验鉴定，如未能鉴定再用抗

本稿1986年3月21日收到

* 导师

COXB 组 1～6 型单价标准血清继续鉴定。中和试验采用微量法。鉴定为 Polio 病毒的毒株，参照医科院生物研究所常规做温度敏感试验。判定标准为两种温度(37℃及39.5～40℃)培养的滴度负对数差，小于 2 为强毒株，2～4.9为中等毒力，5 和 5 以上为弱毒株。

结　果

表1 各季节污水中病毒含量（Pfu/升）

Table 1. Virus contents in sewage of different seasons

	春	夏	秋	冬
第一次	14850	1440	20300	6600
第二次	550	320	42500	5400
第三次	1350	28000	176000	5400
均数	5418	9920	79767	5800

表2 分离病毒的种类及其分布

Table 2. The Kinds of the isolated viruses and their distribution

毒　株		%	春	夏	秋	冬
Polio Ⅰ	19	70.4	5	4	7	3
Polio Ⅱ	1	3.7	1			
Polio Ⅲ	1	3.7				1
$COXB_2$	1	3.7			1	
未鉴定	5	18.5				
合　计	27	100	6	4	8	4

对 polio 病毒进行温度敏感试验结果，有 3 株滴度差小于 2，判为强毒株，有一株滴差等于 2，判为中等毒力株，其余毒株滴度差大于 5，对弱毒株。

表3 四株 Polio 病毒强毒株及中等毒株温度特征

Table 3. Temperature features of 4 strong and moderate strains of polio virus

毒株号	37℃ $TCID_{50}$负对数	39.5～40℃ $TCID_{50}$负对数	滴度差
8	6.5	5.5	1
7	6.5	5.5	1
22	6.5	6.5	0
4	6.5	4.5	2
Mahoney（对照有毒株）	6.5	6.5	0
Lsczab（对照减毒株）	6.5	<1	>5.5

讨 论

生活污水由于受粪便污染，含有大量病毒。据国外报道，含量最高时可达100万pfu/升[2]，在各季节中，通常以夏秋两季含量最高，但也有报道在冬季出现高峰的[3]。国内在这方面尚无报道，这次在上海县的研究表明，国内似乎以秋季污水中病毒含量较高。

在这次研究中，从污水处理厂进厂水中分离病毒的阳性率为100%，病毒含量最高时可达176000 pfu/升，最低也有320pfu/升。这些结果表明，在未经处理的污水中，病毒是经常地大量地存在的。这些污水如不经过处理，直接排入环境中，将造成很大污染，成为传播疾病的重要途径。事实上，通过水源传播的甲型肝炎和急性病毒性胃肠炎的报道已甚多见[4]，在水生贝类养殖区如污染了病毒，也会因病毒在贝类中蓄积而造成食用者的感染。目前我国的污水处理设施尚不普及，大量污水未经处理就排入环境中，这不得不引起卫生工作者的严重关注。

从污水中分离到的病毒，都是肠道病毒，这与我们的浓缩分离方法及所选用的细胞系有关。在滤膜洗脱中运用高pH以及在二次沉淀中运用低pH有机絮凝方法，使得一些抵抗力较差的病毒无法分离到，而只有抵抗力较强的肠道病毒能够被分离到。所选用的BGM细胞系[5 6]，是对肠道病毒极敏感的细胞，在国外这也是运用于水病毒研究最常用的细胞，用于空斑试验效果很好，所以一些对BGM细胞不敏感的毒株以及不能形成空斑的毒株或增殖周期较长的病毒（如甲型肝炎病毒）或不能或不易在细胞培养中增殖的病毒（如CoxA组及人类轮状病毒）也都无法分离到。所以污水中实际病毒含量可能将远远高于目前所测结果。

从污水中分离到的病毒，以polio病毒为主并且多数是减毒株，这主要是与目前polio减毒活疫苗的广泛运用有关。在polio病毒中，以I型为主，这些结果也与我们在自来水厂的研究相同。据上海市卫生防疫站资料[7]，服用减毒活疫苗后，I型排毒率较高些，这可能是污水中脊髓灰质炎病毒以I型为主的原因。另外，可能目前在人群中流行的脊髓灰质炎病毒也以I型为主。我们除分离到减毒株外，还有3株是强毒株，另有一株属中等毒力，这将更引起人们的关注。

参 考 文 献

[1] 蒋慧惠等，1983，上海第一医学院学报 10(4):301—303。
[2] J.S.Slade, 1976, Viruses in water (Ed. G Berg) American Public Health Association, Inc. Washington, DC.
[3] E. Edwards et al, 1980, Viruses and Wastewater Treatment (Ed. M. Goodard and M. Butler) Pergmon Press.
[4] Martin Goldfield et al, 1976, Viruses in Water (Ed. G Berg)
[5] Dahling D.R. et al, 1974, Hlth Lab Sci 11, 4.

[6] Barran et al,1970, Archiv fur die gesamie virusfasshung 32 : 389-392.
[7] 上海市卫生防疫站, 1978, 卫生防疫资料 微生物检验专辑 6:192

VIRUSES IN DOMESTIC SEWAGE

Hong Tao Jiang Hui-hui Yan Hui-qin Li Jie

(Dept. of Microbiol., School of Public Health, Shanghai Medical University, Shanghai)

A study of viruses in domestic sewage of Shanghai County is reported. Adsorbtion-elution procedure is applied to concentrate the sewage sample, plaque assay is applied to count the virus number, microneutralization method is applied to identify the isolated viruses, TS test is applied to test the virus virulence. Viruses in the sewage range from 320 to 176000 pfu per liter, the maximum amout appears in fall. They are mainly enteroviruses, most of them are vaccine strain.

www.cnki.net