

## 水环境中病毒吸附及存活规律的研究\*

李小锋 张楚瑜 王祖卿

(武汉大学病毒系, 武汉)

### 提 要

我们从自然环境的污泥中检测出了病毒, 并发现其含量比覆盖水中的病毒含量高得多。在实验室条件下, 我们用 Poliovirus I 模拟自然环境, 对病毒在水和淤泥中的分布、存活等进行了研究, 结果表明淤泥对水环境中的病毒具有很强的吸附能力。相对水而言, 淤泥对病毒具有较好的保护。

**关键词:** 淤泥, 吸附, 覆盖水, 存活率

淤泥是水生生态系统的重要组成部分, 在病毒生态系统中起着重要作用。含有大量病毒的生活污水和其它废水总是与淤泥紧密相联的。其中的病毒易吸附于淤泥表面, 或吸附于水中悬浮的固体颗粒, 甚至凝集成块沉降于淤泥中, 并且还能受到一定的保护, 使病毒的灭活变得缓慢。国外研究表明, 在污水处理厂用污泥处理废水的过程中, 污泥中含有的病毒量为 5000—28000 PFU/L<sup>(1)</sup>。并从各种淤泥中检出了各型脊髓灰质炎病毒, 柯萨奇病毒, 呼肠孤病毒, 埃可病毒等, 有的病毒量达 112 PFU/L<sup>(2)</sup>。我们也从武汉东湖某排污口的底部淤泥中检出了病毒, 达 61 PFU/1000g。淤泥一般只对病毒起一个暂时贮存的作用, 对人不存在大的威胁, 但是, 一旦因雨水或别的什么原因而使淤泥翻动, 病毒就可重新悬浮在水中, 使水环境中的病毒浓度增加, 并随水流四处传播, 对人们的健康造成危害。因此弄清病毒在水环境中被吸附及存活的情况, 对病毒生态学及流行病学都有重要意义。为了进一步认识这个问题, 我们结合《水环境中病毒行为》这一科学基金项目, 对水中病毒存活及吸附规律进行了研究。

### 材 料 与 方 法

#### 1. 实验材料:

- (1) 脊髓灰质炎病毒 I 型 ( Poliovirus I );
- (2) 对肠道病毒敏感的 BGM 细胞系;
- (3) 淤泥取自东湖某排污口底部;
- (4) 水样取自武昌东湖。

#### 2. 实验方法:

- (1) 对武汉东湖某排污口底部淤泥及上层覆盖水中病毒的研究:

本文于 1987 年 12 月 21 日收到

\* 本课题为自然科学基金资助项目,

取排污口底部淤泥 49.35 克, 同时取上层覆盖污水 20 升。加入 pH11.5 0.05mol/L EDTA-0.25mol/L Gly 洗脱液到淤泥中, 充分搅拌, 使最终 pH 达到 10。然后 4000r/m 离心 15 分钟, 收集上清。向上清中加入 0.6mol/L AlCl<sub>3</sub>, 使其最终达到 0.06mol/L AlCl<sub>3</sub>。充分搅拌后, 再调 pH 至 3.5, 4000 r/m 离心 15 分钟, 取沉淀。用 pH 11.5 的细胞维持液 15ml 悬浮沉淀, 再 4000r/m 离心 15 分钟, 取上清即为样品液, 调 pH 至 7.0, 置冰箱备用 (这种方法我们简称 EDTA-Gly 洗脱法)。我们采用滑石粉-硅藻土浓缩<sup>[4]</sup>污水。然后将浓缩后的样品液作病毒空斑试验<sup>[4]</sup>。

#### (2) 模拟病毒在水中被淤泥吸附研究:

取淤泥若干克, 加入双蒸水和一定量的 Poliovirus I 充分混匀。取 80ml 于离心管中 4000r/m 离心 15 分钟。收取上清, 量其体积, 过滤除菌后作病毒空斑试验; 沉淀(亦即淤泥)称重后, 用 EDTA-Gly 法洗脱出其中的病毒, 也作空斑试验。实验共重复 5 次。

#### (3) 水中病毒存活的研究:

取东湖水约 20 升, 加入一定量的病毒, 立即取 2000ml, 用滑石粉-硅藻土方法对其中的病毒进行 200 倍的浓缩, 然后做 TCID<sub>50</sub> 试验, 测定浓缩液中的病毒滴度, 然后每隔一段时间取 2000ml 进行 200 倍浓缩, 测定浓缩液滴度。

#### (4) 淤泥中病毒存活的研究:

取淤泥若干克, 加入一定量病毒及少量东湖水, 充分混匀后, 分装于 6 个 100ml 三角瓶中, 每瓶 80ml。待淤泥沉降后, 倒掉覆盖水, 用 EDTA-Gly 洗脱淤泥, 测样品液的 TCID<sub>50</sub> 值。然后每隔一段时间取一瓶, 洗脱后测定样品液的 TCID<sub>50</sub> 值。

## 结果与讨论

1. 我们检测出某排污口底部淤泥中病毒量为 61PFU/1000g, 覆盖水中病毒量为 10.5PFU/L。说明在自然界水中病毒确能被淤泥所吸附。淤泥中的病毒浓度约大于覆盖水中的病毒浓度 6 倍, 这与国外报道的每克淤泥中病毒含量比每毫升水中高出 10 倍大致相同。

2. 病毒在水中被淤泥吸附的模拟结果如表 1:

表 1 水中淤泥对病毒的吸附  
Table 1 Adsorption of viruses to sludge in water

次 数	V(ml)	W(g)	覆盖水中 (PFU/ml)	淤 泥 中 (PFU/g)
1	70	13.0	220	$9.23 \times 10^4$
2	48	32.7	75	$1.65 \times 10^5$
3	60	18.5	333	$3.14 \times 10^5$
4	60	19.5	420	$3.12 \times 10^5$
5	47	34.3	580	$5.38 \times 10^5$

其中 V 为离心后上层水的体积, W 为离心后淤泥的湿重。

可以看出, 淤泥对病毒的吸附率很高, 每克淤泥中病毒含量比每毫升水中平均高出近 1000 倍, 这与前面我们从自然环境中得出的结果有较大的出入, 分析可能是实验室

模拟的缘故。我们使用的病毒量较高，且吸附较为充分，因而其含量高出近1000倍，这与国外有关方面的研究报告相吻合。国外对泥土中的病毒研究较早，特别是研究用活性污泥吸附处理污水，使去除病毒效率达90—99%，表明活性污泥法是比较好的污水生物处理工艺。如印度孟买 Dadar 污水处理厂每天用活性污泥处理五百万加仑废水，可除去其中90—99%的肠道病毒<sup>[1]</sup>。

3. 水中和淤泥中病毒存活的研究结果分别如表2、表3所示。

根据表2表3的结果，我们以时间为横坐标。以存活率为纵坐标作图如图1所示。

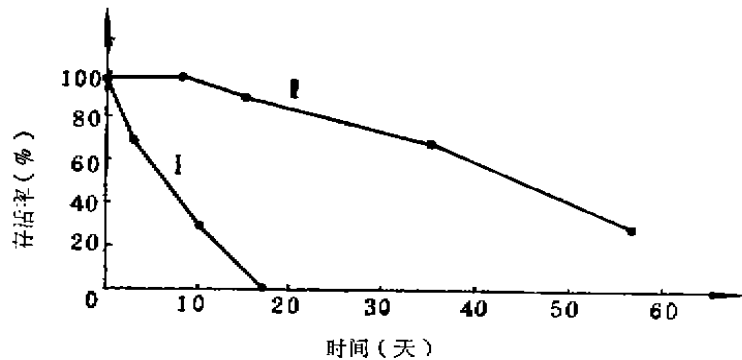


图1 病毒在水中(I)和在淤泥中(II)的存活曲线

Fig. 1 Survival of viruses in water(I) and in sludge (II).

表2 病毒在水中的存活  
Table 2 Survival of viruses in water

日期(1987年)	4月7日	4月10日	4月17日	4月24日
时间间隔(天)	0	3	10	17
TCID <sub>50</sub> 值	7.5	5.5	3.0	0
存活率(%)	100	73	40	0

其中：存活率 =  $\frac{\text{每次 TCID}_{50} \text{ 值}}{\text{第一次 TCID}_{50} \text{ 值}} \times 100\%$ ，在试验期间平均室温为 16.1℃。

表3 病毒在淤泥中的存活  
Table 3 Survival of viruses in sludge

日期(1987年)	3月26日	4月3日	4月10日	4月30日	5月23日
时间间隔(天)	0	8	15	35	58
TCID <sub>50</sub> 值	8.5	8.5	8.0	6.0	3.9
存活率(%)	100	100	94	71	35

其中：存活率 =  $\frac{\text{每次 TCID}_{50} \text{ 值}}{\text{第一次 TCID}_{50} \text{ 值}} \times 100\%$ ，在试验期间平均室温为 15.8℃。

从图1中可以看出，poliovirus I在淤泥中存活率随时间延长而下降的速度比水中慢得多，因而可以推断它在淤泥中的存活时间比在水中长。淤泥中的粘土，有机物等能吸附病毒，并对其加以包埋，保护病毒免遭外界因子(如射线，水体中的化学物质等)的灭活。另外也可能是淤泥中含有较多的有机物质，使整个淤泥环境保持较低的氧化还原

电势,使病毒免遭某些氧化剂的灭活。当然,淤泥中肯定也有一些对病毒存活不利的因子(如重金属离子、产酸产碱的微生物等),病毒在淤泥中的存活率就是这些因素相互作用的结果。

整个试验结果说明,不仅病毒污染的水对人体有危害,由于淤泥可吸附病毒并加以保护也对人体产生危害,其潜在的危害性甚至可能更大,这应该引起有关部门的注意。

### 参 考 文 献

- (1) Gabriel Bitton, 1980, Introduction to Environmental Virology, P. 248.
- (2) Gabriel Bitton et al., 1985, Survey of Virus Isolation Data from Environmental Samples, US. E. P. A., P. 122-128.
- (3) 张楚瑜等, 1983, 环境科学, 2: 54.
- (4) 戴华生等, 1983, 新实验病毒学, P. 113.
- (5) Charles P. Gerba & Sagarm Goyal, 1982, Methods in Environmental Virology, P. 152-158.
- (6) Gerald Berg, 1983, Viral Pollution of the Environment, P. 147-159, P. 95-110.

## A Study on Law of Viral Survival and Adsorption in Water

Li Xiao-feng Zhang Chu-yu Wang Zu-qing

(Department of Virology, Wuhan University, Wuhan)

We detected viruses in environmental sludge and found that the virus content of sludge was higher than that of water. We simulated natural environment in laboratory to study the distribution and survival of poliovirus 1 in water and in sludge. The results showed that in comparison with water the sludge protected the viruses.

**Key Words,** sludge, adsorption, cover water, survival rate.