

紫外線消毒による病原ウイルスの不活化効果

The effect on inactivation of pathogenic virus by Ultraviolet disinfection

大瀧雅寛

Masahiro OTAKI

1. はじめに

当研究室では紫外線による水の消毒を一つの研究対象として扱っている。紫外線消毒法は消毒の際に化合物を添加しなくて済むため、処理水に生残するものがないという大きな長所をもつ方法であり、欧米では塩素から紫外線消毒に切り替えるところも多い。この紫外線消毒の効果については、数十年の研究蓄積がある。しかしここ十何年かを除けば、その対象は病原細菌に絞られていた。それは測定の簡便さが第一の理由としてあげられる。従って、多くの病原細菌の紫外線感受性についてはデータが数多く存在する一方で、病原ウイルスについてのデータは非常に限られている。しかし近年のウイルス測定技術の進歩およびその生死判定法の改善などに伴い、研究報告が年々増える傾向にある。

本論文の目的は、現時点での病原ウイルスの紫外線感受性についてデータをまとめ、それを総括することにある。

2. 紫外線のウイルス不活化力

ウイルスの紫外線感受性に関する研究報告は、細菌ほど早い段階から行われているわけではなく、従って対象としているウイルスの種類も多岐にわたってはいない。それは近年に至るまで病原ウイルスの検出技術やその活性力(感染力)の測定および評価技術が確立されなかったことが最大の原因である。従ってそれらの測定および評価技術が格段に進歩した1970年代~80年代においては、紫外線を含む様々な消毒技術に対するウイルスの感受性に関する研究が進んだ。

また病原ウイルスに比べて、実験方法が簡

単な細菌感染性ウイルス(以下、バクテリオファージ)が紫外線消毒実験においては用いられることが多い。これはバクテリオファージの構造が病原ウイルスに似ていること、紫外線の消毒機構から考えると、ファージの不活化効果を病原ウイルスの不活化(消毒)効果に外挿することが妥当であると考えられること、などの理由による。Fig.1はバクテリオファージを形態学および種々の特徴に基づいて分類したものである。様々な病原ウイルスをこのバクテリオファージのいずれかに相当させることにより、感染力の評価技術が未確立なウイルスについても大雑把ではあるが紫外線感受性を類推することも可能であろう。


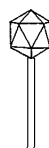




<p>Myoviridae</p>  <p>ds DNA 体細胞 95 × 65 nm</p> <p>T2</p>	<p>Styloviridae</p>  <p>ds DNA 体細胞 54 nm</p> <p>λ</p>	<p>Podoviridae</p>  <p>ds DNA 体細胞 47 nm</p> <p>T7</p>
<p>Microviridae</p>  <p>ss DNA 体細胞 30 nm</p> <p>φX174</p>	<p>Leviviridae</p>  <p>ss RNA 纖毛 24 nm</p> <p>MS2</p>	<p>Inoviridae</p>  <p>ss RNA 纖毛 810 × 6 nm</p> <p>fd</p>

Fig.1 Major families of bacteriophages Each box shows: morphological group, family name, morphology and name of type species, type of nucleic acid, situation of receptor in host-cell, dimensions of capsid of type species.

By Matthews(1982)

また紫外線に関する研究報告においては、

その時代において低圧水銀紫外線ランプ（以下低圧紫外線ランプ）が主流の技術であったため、研究報告の多くはこの低圧紫外線ランプから照射される単波長光（253.7 nm）に対する感受性に関するデータとなっている。

3. 圧紫外線ランプによる消毒

前述の様に、これまでのウイルスの紫外線感受性に関する研究データの多くはこの低圧紫外線ランプを用いたものである。TABLE 1 はこれらの研究データをまとめたものである。

Adenovirus のうちヒトに感染して下痢を生じるタイプは 40 と 41 型であるといわれている。

近年の研究（Meng ら(1996), Turston ら(2003), Ko ら(2003)）によって、これら Adenovirus 40 & 41 は TABLE 1 で示しているウイルス種の中で最も紫外線耐性が強い部類に入ることがわかってきた。99.9%不活化に要する紫外線線量は各々 90~153, 71~167 mJ/cm² と大腸菌に比べて十数倍高い。さらに Turston ら(2003)によれば、低紫外線量域において、不活化が一次的に進行せず遅延する現象が見られている（Fig.2 参照）。この様な遅延現象は微生物の核酸に紫外線によって致命的な損傷を受ける箇所が複数あるような場合（マルチヒット理論）の場合に見られるもの

TABLE 1 REQUIRED UV DOSE FOR 99 & 99.9% INACTIVATION OF VIRUSES

ウイルス種	99%	99.9%	実験条件	文献
Adenovirus 2	53	80	蒸留水	Ballester <i>et al.</i> (2003)
Adenovirus 40	60	90	蒸留水	Meng <i>et al.</i> (1996)
	102	153	地下水	Thurston <i>et al.</i> (2003)
Adenovirus 41	47	71	蒸留水	Meng <i>et al.</i> (1996)
	111	167	PBS	Ko <i>et al.</i> (2003)
Carine calicivirus	10	15	?	Husman (2003)
Feline calicivirus	14	21	地下水	Thurston <i>et al.</i> (2003)
	16	24	?	Husman (2003)
Coxsackievirus A-9	24	36	海水中	Hill <i>et al.</i> (1970)
Coxsackievirus B-1	31	46	海水中	Hill <i>et al.</i> (1970)
Echovirus 1	22	32	海水中	Hill <i>et al.</i> (1970)
Echovirus 11	24	36	海水中	Hill <i>et al.</i> (1970)
Hepatitis A	7	11	?	Wolfe (1990)
Mouse minute virus	5	7.7	PBS	Anderle (2003)
Porcine parvovirus	5	6.8	PBS	Anderle (2003)
Poliovirus	15	23	?	Cairn (1992)
Poliovirus 1	8	12	蒸留水	Meng <i>et al.</i> (1996)
	10	15	?	Wolfe (1990)
	22	32	海水中	Hill <i>et al.</i> (1970)
Poliovirus 2	24	36	海水中	Hill <i>et al.</i> (1970)
Poliovirus 3	21	31	海水中	Hill <i>et al.</i> (1970)
Reovirus 1	31	46	海水中	Hill <i>et al.</i> (1970)
Rotavirus	23	34	?	Cairn (1992)
Rotavirus SA-11	16	24	?	Wolfe (1990)
MS2	28	42	蒸留水	Meng <i>et al.</i> (1996)
	58	87	BDF	Thurston <i>et al.</i> (2003)
PRD-1	17	26	蒸留水	Meng <i>et al.</i> (1996)
Qβ	41	54	PBS	Kamiko <i>et al.</i> (1989)
φX174	4	6.7	PBS	Anderle (2003)

である。一般的にファージも含めたウイルスは致命的損傷箇所が一カ所であるワンヒットモデルで説明されることが多く、不活化は一次的に進行するのだが、Adenovirus は例外のようである。これは特に低線量の照射において予想される不活化率を過大評価することにつながってしまうため、注意が必要である。

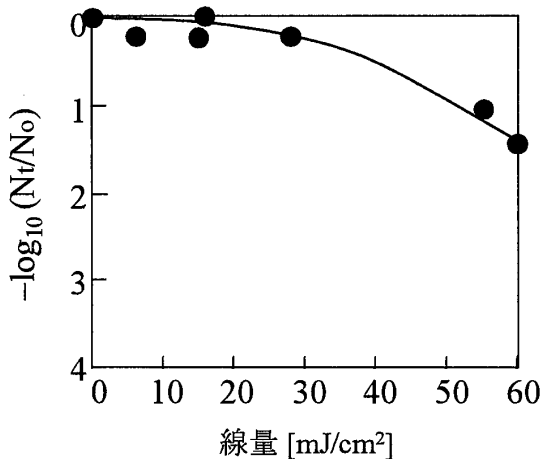


Fig.2 Inactivation of Adenovirus 40 following shoulder curve in low UV dose
by Thurston-Enriquez *et al.*(2003)

また Adenovirus は下水から高頻度に検出されることから、環境水を汚染する可能性は高いと考えられる。従って、このウイルスの不活化に要求される紫外線線量が、一つの基準として扱われる可能性も高い。ただしウイルス感染能力の測定法が定まっていないため、まだばらつきが大きいデータとなっている。今後のデータの蓄積が待たれる。

Calicivirus は、ヒト感染型 Calicivirus の感染能力測定が確定していないため、Feline calicivirus (ネコカリシウイルス) もしくは Carine calicivirus (イヌカリシウイルス) を代替ウイルスとして UV 感受性が測定されている。実験データからは 99.9% 不活化に要する紫外線線量は 15~24 mJ/cm² とそれほど強い紫外線耐性を示していないことから、ヒトカリシウイルスの耐性も強くないことが類推される。ただしあくまでも類推であるため、確

実なデータを得るためにはヒトカリシウイルスの感染能力の評価手法の確立が望まれる。

同様に Parvovirus もヒト感染型ウイルスの感染能力測定が確立されていない。TABLE 1 には代替ウイルスとしての Mouse minute virus (マウス微小ウイルス) と Porcine parvovirus (ブタパルボウイルス) の UV 感受性が示されている。そのどちらも 99.9% 不活化には 6.8~7.7 mJ/cm² であり紫外線に対して相対的に弱い。

4. ウイルスの構造と紫外線耐性

最も UV 耐性が強いと考えられる Adenovirus は二本鎖 DNA をもつ正二十面体構造を持っており、その大きさは 70~90 nm である。一方、ファージの中で同じ二本鎖 DNA をもち正二十面体構造である PRD-1 の紫外線耐性は非常に低い。また筆者の実験結果においても二本鎖 DNA をもつ T4 ファージは紫外線耐性が非常に低いことがわかっており二本鎖 DNA を持つウイルスにおいて紫外線耐性が共通であるとは言えないようである。

一本鎖 RNA をもつ病原ウイルスは Calicivirus, Coxsackievirus, Hepatitis A, Poliovirus, であるが、99.9% 不活化に必要な紫外線量は 11~46 mJ/cm² と病原ウイルスの中では相対的にやや高い紫外線耐性を持っているといえる。一方同様な構造をもつファージには MS2, Qβ があるが、これらの 99.9% 不活化に必要な紫外線量は 42~87 mJ/cm² と Adenovirus について高い耐性となっている。

この様に同様な構造をもつ病原ウイルスとファージを比較してみても、その紫外線耐性に関する傾向は全く異なっている。ウイルスの場合、その他の微生物種に比べて紫外線照射後の光回復や暗回復を行う機構を単独では持たないと考えられるため、その不活化機構は単純であろうと考えられる。しかし、上記のような差違が生じてしまうのは、例えば紫外線耐性の高いウイルスにおいては、核酸における紫外線損傷が致命的となる箇所が三次

構造的に照射されにくい場所となっているなどの理由が考えられる。しかし妥当な説明はまだなされていない。

5. まとめ

以上のように、ウイルスに対する紫外線消毒の効果をまとめてみると、一次反応ではない不活化特性を示す場合など、これまで考えられていなかった事例が報告されてきたことは興味深い。また同じ種類でも実験条件で大きくデータ値が異なるものなど、問題点も浮かび上がってくる。今後はこの様なデータの不整合性をなくすための、ウイルス測定のプロトコル化、標準方法の規定などデータを得るための下地部分の整備が必要であろう。

6. 参考文献

- Anderle H., Matthiessen P., Spruth M., Kreil T., Schwarz H.P., and Turecek P.L., (2003) Assessment of the efficacy of virus inactivation by UV-C treatment of therapeutic proteins, *Proc. of 2nd IUVA conference held in Vienna*.
- Ballester N.A., Malley, Jr., J.P., North J., Myers T., and Duben M. (2003) Synergistic Disinfection of Adenovirus Type 2, *Proc. of 2nd IUVA conference held in Vienna*.
- Bosch A et al. (1989) Comparative resistance of bacteriophages active against *Bacteroides fragilis* to inactivation by chlorination or ultraviolet radiation. *Wat. Sci. Technol.* 22 221-226.
- Cairn, W.L. (1992) Ultraviolet light disinfection of drinking water ; Shedding light on higher quality water, *Water Technology International*, pp. 221-224.
- Chang J.C.H. et al. (1985) UV inactivation of pathogenic and indicator micro-organisms. *Appl. Envir. Microbiol.* 49, 1361-1365.
- Dizer H., Bartocha W. Bartel H. Seidel K., Lopez-Pila J.M. and Grohmann A., (1993) Use of Ultraviolet radiation for inactivation of bacteria and coliphages in pretreated wastewater, *Wat. Res.*, Vol.27, No.3, pp.397-403.
- EPA, (1986) Design Manual - Municipal wastewater disinfection, EPA/625/1-86/021
- Havelaar et al.(1987) F-specific bacteriophages as indicators of the disinfection efficiency of secondary effluent with ultraviolet irradiation. *Ozone Sci. Engng* 9, 353-368.
- Hill W.F. et al (1970) Ultraviolet devitalization of eight selected viruses in estuarine water. *Appl. Microbiol.* 19, 805-812.
- Hill W.F., Akin E.W., Benton W.H., and Hamblet F.E. (1971) Viral Disinfection of Estuarine Water by UV, *Proc. of the American Society of Civil Engineers. Journal of the Sanitary Engineering Division*.
- Husman A.M.de R., Duizer E., Lodder W., Pribil W., Cabaj A., Gehringer P., and Sommer R. (2003) Calicivirus inactivation by non-ionizing (UV-253.7 nm) and ionizing (gamma) radiation, *Proc. of 2nd IUVA conference held in Vienna*.
- IAWPRC study group on Health Related Water Microbiology (1991) Bacteriophages as model viruses in water quality control" *Wat. Res.* Vol.25 No.5, pp.529-545
- Ko G., Cromeans T.L., and Sobsey M.D. (2003) UV inactivation of Adenovirus Type 41 Measured by Cell culture mRNA RT-PCR, *Proc. of 2nd IUVA conference held in Vienna*.
- Mattern I.E. et al (1965) The range of action of genes controlling radiation sensitivity in *Escherichia coli*. *Mut. Res.* 2, 111-131.
- Meng Q.S., and Gerba C.P. (1996) Comparative inactivation of enteric adenoviruses, poliovirus and coliphages by ultraviolet irradiation, *Wat. Res.*, Vol.30, No.11, pp.2665-2668.
- Morris E.J. (1972). The practical use of ultraviolet radiation for disinfection purposes.
- National Water Research Institute, (1993) UV disinfection guidelines for wastewater reclamation in California and UV disinfection research needs identification.
- Thurston-Enriquez J.A., Haas C. N., Jacangelo J., Riley K., and Gerba C. P., (2003) Inactivation of Feline Calicivirus and Adenovirus Type 40 by UV Radiation, *Appl. Envir. Microbiol.* 69, pp. 577-582
- Severin B.F. et al. (1983) Effects of temperature on ultraviolet light disinfection, *Envir. Sci. Technol.* 17, 717-721.
- Sommer R., Haider T., Cabaj A., Pribil W., and Lhotsky M. (1998) Time dose reciprocity in UV disinfection of water, *Wat. Sci. Tech.*, Vol.38, No.12, pp.145-150.
- Taylor G.R. (1982) The effect of disinfectants on picornaviruses structure and infectivity. In *Viruses and Disinfection of Water and Wastewater* pp.289-297. University of Surrey, Guildford.
- Water Environment Federation (1996) Wastewater disinfection, *Manual of Practice* FD-10.
- Wolf, R.L (1990) Ultraviolet Disinfection of potable water, *Envir. Sci. Technol.*, 24, 768