

学童の生活環境を汚染したウイルスの 感染性の時間変化の解析

Time Course of the Virus-inactivation on the Experimentally Contaminated Materials Related to the Daily Life of School Children

辻本 和子 西出 充徳 森下 順子 吉田 穰 小山 一

要 約

体外に排出され日常環境を汚染したウイルス粒子がどれほどの期間、伝播力(感染性)を保ったままであるのかについて、小学生の日常生活環境をモデルとし学童が普段触れ得る材料を対象に解析を行った。ウイルスには、A型インフルエンザウイルスとしてはA₀PR8/34(H1N1)株(IAV)、ポリオウイルスとしてはサービン生ワクチン株(PV)、単純ヘルペスウイルスとしてはHF株(HSV)を用い、汚染する試験材料としては、ペットボトル、ゴム板、ステンレス取っ手、ヒノキ材、運動場砂、ランドセルを用いた。撥水性材料のペットボトル上ではIAV、PVともに20分経過してもウイルス液は対照(Time=0)と同じ残存ウイルスの感染価を保つ一方、HSVでは接種後15分を過ぎると急速に感染価が減少した。ペットボトルと同様の結果はゴムやランドセル上でも見られた。撥水性でもステンレス製取っ手上でPVは汚染後15分は対照と変わらない感染価を保つがHSVでは経過5分で感染価が顕著に減少し始めた。非撥水性材料では、ヒノキ材上で汚染5分後には3種全てのウイルスで感染価が顕著に減少した一方、運動場砂ではPVは20分経過しても汚染直後と変わらない感染価を保ち、IAVやHSVでは15分経過後から失活し始めた。また、HSVは汚染後に相対的に速い速度で感染性を喪失した。

はじめに

近年、爆発的な流行を繰り返し問題となる多くの感染症についての解析が進み、感染予防や対処法についても予防啓蒙の情報が社会的に大きな関心事となっている。インフルエンザウイルスやノロウイルスなど短期間に広範な感染拡大をする病原性微生物の伝播防止のためには、憶測ではなくエビデンスに基づいた対策を立てる必要がある。しかし、体外に排出されたウイルスがどれほどの期間感染性を保ったままであるのかについては不明なままに漫然と衛生手技が説かれており、実際の日常生活環境での病原性微生物の感染性の消長などについての根拠となるデータは少ない。

一般に、感染伝播における感染源としては、インフルエンザウイルスでは飛沫感染と接触感染が主とされ、マスクの装

着、手洗い試行、手指の消毒による予防策¹⁾が啓蒙されてきている。また、ノロウイルスに関しては吐物や排泄物からの直接または汚染された食品などを介した糞口感染が主とされており²⁾³⁾、吐物などからウイルスが空気中に舞い上がった防塵感染も疑われている。ノロウイルスによる汚染では消毒処理として次亜塩素酸ナトリウムなどが有効であることも周知されている。このように感染経路の特定や予防対処法が確立され広く実践されているにもかかわらず、集団で密接、広範囲の関わりを基本とする私たちの社会生活ではウイルス感染の拡大を防止することは成功していない。エビデンスの蓄積による更なる予防法の解析が期待されている。

本研究では特に、密な接触が多く集団で生活をする小学生の環境をモデルにして、教室の中から放課後にいたるまで子供たちの日常生活の中で頻繁に共有して接触しあう物品

(ペットボトル、ゴム板、ステンレス取っ手、ヒノキ材、運動場砂、ランドセル) 上でのウイルスの生存期間を系統的に調べた。ウイルスとしては接触伝播が知られている3種のウイルス、A型インフルエンザウイルス(IAV)、ポリオウイルス(PV)、単純ヘルペスウイルス(HSV)を用いた。これら3種のウイルスは遺伝子核酸もウイルス粒子構造も異なっており、不活化など環境中での挙動を異にすると考えられる。

材料と方法

試料

小学生の児童が朝家を出て学校の教室に着くまでに手で接触する可能性のある物質として(ペットボトル、ゴム板、ステンレス取っ手、ひのき材、運動場砂、ランドセル)の6種類を選んだ。生活環境を想定してホームセンターなどで購入した素材を水道水で洗浄しキムワイプで水分を拭き取ったままのもので調べた。ランドセルは日常使用しているものを一度70%アルコールで清拭した後使用した。運動場砂では細菌汚染がひどくそのままでは調べられないため、試験管に分けて乾熱滅菌したものを使用した。

ウイルス及び細胞

ウイルスとしてはA型インフルエンザウイルス、ポリオウイルス、単純ヘルペスウイルスの3種を使用した。安全性の観点からヒトでの発症の可能性が極めて低い馴化株を用い、A型インフルエンザウイルスとしてはA₀PR8/34(H1N1)株(IAV)、ポリオウイルスとしてはセービン生ワクチン株(PV)、単純ヘルペスウイルスとしてはHF株(HSV)を用いた。ポリオウイルスは近年社会的に問題とされているノロウイルスの代替ウイルスで、ノロウイルスとポリオウイルスは遺伝子構造もウイルス粒子構造も感染様式も極めて似ている。ノロウイルスはin vitroでの増殖が成功していないためこのような実験に用いることはできず、代替として同じ消化器感染ウイルスのポリオウイルスを使用した。細胞はIAVに対してはMDCK細胞、PV及びHSVに対してはVero細胞を用いた。

方法

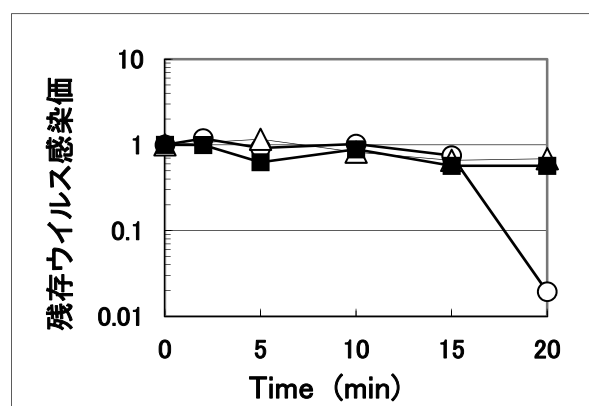
試験材料のペットボトル、ゴム板、ステンレス取っ手、ヒノキ材、運動場砂、ランドセル上に、各ウイルス液2μlを置いて汚染した。汚染試料はクリーンベンチ内に放置後、経時的に回収して残っている感染性ウイルス量をブラック法で定量した。対照としては試料放置直後のTime-0で回収した感染性ウイルス量を用いた。

結果

1. 撥水性素材上におけるウイルスの安定性について

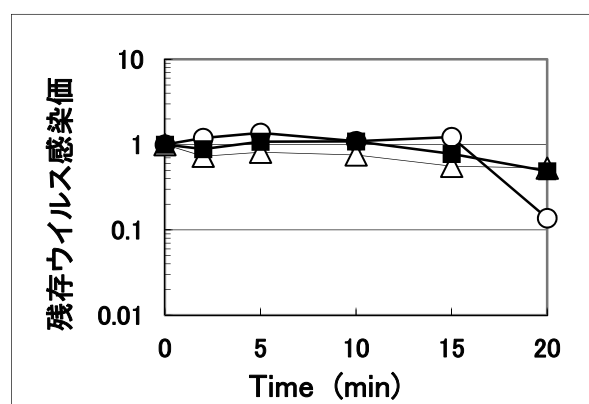
試料のうちペットボトル、ゴム板、ステンレス取っ手、ランドセルには撥水性があり、汚染ウイルス液が試料内部に浸透することなく試料上に水滴上にとどまった。対照(Time-0)の残存ウイルス感染価を1とした時の相対値で、(図1)にペットボトル上にウイルス液を滴下した後に経時的に回収される感染性ウイルス量の変化を示した。回収されたウイルスの感染価はIAV、PVともにウイルス汚染後20分経過しても対照(Time-0)と変わらない感染価を保つが、HSVは20分で0.02となった。(図2)ゴム上でも同様にIAV、PVはゴムの上に滴下されて20分経過までTime-0と変わらない感染価を保ち、HSVは20分で0.14まで減少した。(図3)ステンレス取っ手ではIAVでは接種後10分までは対象と変わらなかった。PVでは接種後15分経過から感染価の減少が顕著になり、HSVでは5分経過後から感染価の減少が見られ、10分で0.01となった。

図1 ペットボトル上で回収されるウイルスの感染価の減少



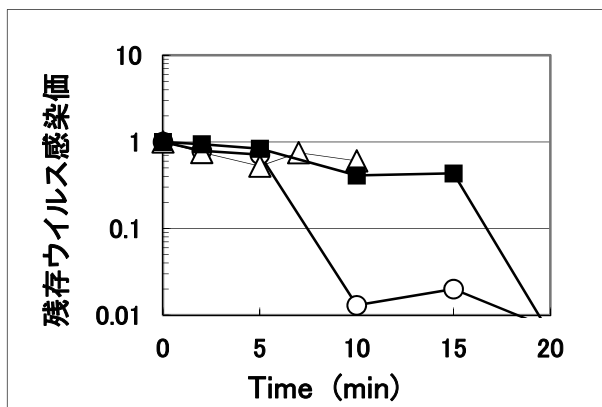
〈 ○;HSV △;IAV ■;PV 〉

図2 ゴム材上で回収されるウイルスの感染価の減少



〈 ○;HSV △;IAV ■;PV 〉

図3 ステンレス取っ手上で回収されるウイルスの感染価の減少

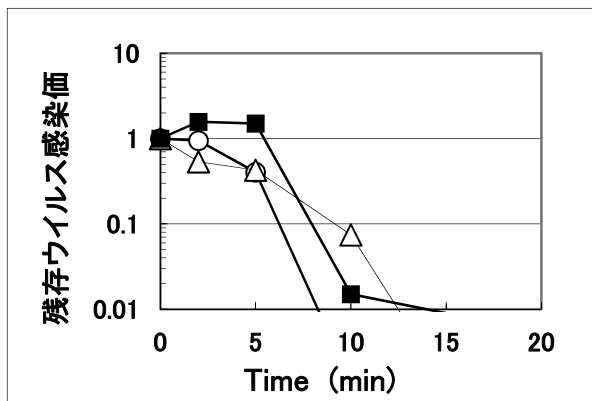


〈 ○;HSV △;IAV ■;PV 〉

2. 非撥水性素材上におけるウイルスの安定性について

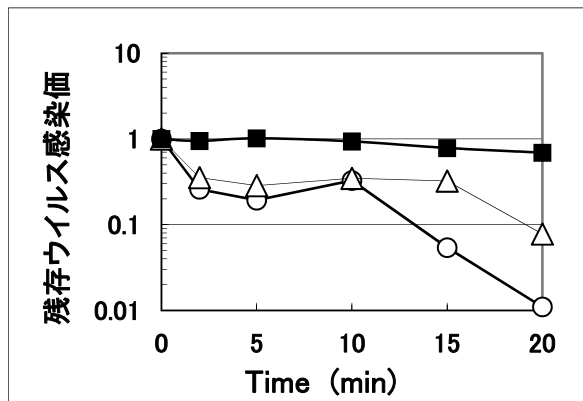
ヒノキ材、運動場砂は非撥水性であり、ウイルス液滴下直後から目視により液体が素材の中に吸収されるのが観察された。3種類のウイルスのいずれでもウイルス液滴下5分で試料表面の液体は乾燥したように見えた。(図4)のヒノキ材上でのウイルスの感染価の減少では、回収された残存ウイルスの感染価は滴下5分後からの減少が見られ、10分では対照(Time=0)に比べIAVでは0.07、PVでは0.01、HSVでは0.001であった。(図5)運動場砂上でもウイルス液は滴下直後に試料に吸収されヒノキと同様乾燥したように見えた。しかし、回収されてくるウイルス感染価の変化についてはヒノキの場合と異なり、PVでは20分経過してもTime=0と変わらない感染価を保ち、IAVでは15分経過後から感染価が低下し20分で0.08となり、HSVでは10分経過後から感染価の減少が見られ20分で0.01であった。

図4 ヒノキ材上で回収されるウイルスの感染価の減少



〈 ○;HSV △;IAV ■;PV 〉

図5 運動場砂上で回収されるウイルスの感染価の減少

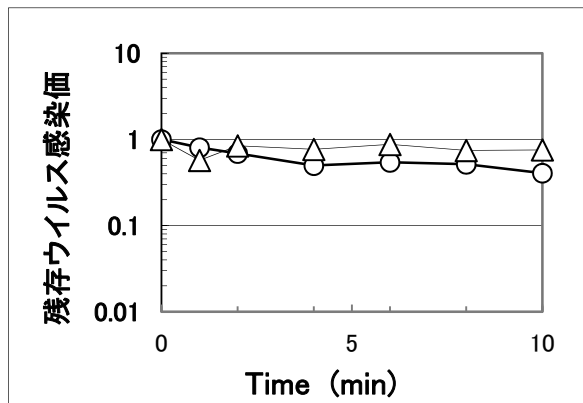


〈 ○;HSV △;IAV ■;PV 〉

3. 共存タンパク質の影響

回収ウイルス量へのウイルス試料液中の共存タンパクの影響の有無を見るために、撥水性があったランドセルを用いて各0.1%BSAと5%BSAを含ませたウイルス液で経時的なウイルスの感染価の変化を比較した(図6)。しかし、Time=0から10分まで調べた限りではウイルスの感染価の変化に差はなかった。

図6 ランドセル上で回収されるインフルエンザウイルスの感染価の減少



〈 ○;0.1%BSA 含 △;5%BSA 含 〉

考察

ペットボトルなど、幾つかの素材上では汚染後15分以上経っても感染性ウイルスが回収された。この期間は手指等を介した接触感染の経路のひとつとして、集団生活下で私たちが触れる材料についてのウイルスが伝播源となることが考えられる。ヒノキ材など吸水性が強く汚染部位が乾燥しやすいものではウイルス不活化までの時間が早く、伝播源としての役割は小さいと考えられる。一般に、ウイルスの伝播力と汚染部位の乾燥とは大きく関与すると考えられる。エンベロープウイルス(HSV, IAV)と非エンベロープウイル

ス(PV)ともに不活化の程度に差がない材料が幾つかある。

また、共同研究者の池田等⁴⁾による「実験的に汚染させた被服上でのウイルス感染性の経時的な変化」についての研究においても、材質によって差があった。今回の実験結果と共通して、撥水性材料でウイルス液が安定に水滴を保って汚染し続けているものと、吸水性の材料によってウイルス液の水分が吸収されウイルスを急激に乾燥させるものとの違いがウイルスの生存期間を左右させる主因と示唆される結果であった。

本研究で使用するウイルスの中で IAV や消化器感染ウイルスの一部は冬期に大流行を起し社会問題となっている。中でも、インフルエンザに関しては感染予防策として生活空間の加温と加湿が良いとされ積極的に取り組まれている。このような環境条件の維持は、ヒトの気道などを乾燥させ、のどの粘膜に負担をかけることによる微生物感染の機会を軽減する一助ともなっていると思えるが、感染予防の観点から最適とされる温湿度が環境中に排出されたウイルスの生存性にどの程度の相関関係があるのかについて科学的と言えるデータは少ない。本研究の結果ではウイルス液が乾燥する事によって感染価が減少されることが考えられるが、物品にウイルスが吸着し回収率が減少していることも考えられる。どちらにせよ、汚染ウイルス液が乾燥した場合の方が伝播期間は短いと示唆される結果であった。物品上に汚染した微生物の残存性の消長や伝播効率、洗浄効果についてはバクテリアに比べてウイルスでは報告が少なく、本研究は感染予防対策のための基礎となり得るデータとして期待できる。

文献

- 1) 森成元:感染症 インフルエンザ, 家庭の医学, 社会保険出版社, 1213~1215(2003)
- 2) Kim Y.Green: Caliciviridae, The noroviruses, Fields Virology, fifth ed, Belmont, Maryland, pp. 949~971(2007)
- 3) 野田衛・上間匡:ノロウイルスの不活化に関する研究の現状, 国立医薬品食品衛生研究所報告, 129, 37~54(2011)
- 4) 米島望・芝崎真季・角野ひかる・工藤絵里・藤村典子・池田敬子:衣服に付着したインフルエンザウイルスの感染性の変化について, 和歌山県立医科大学保健看護学会誌, 3, 25~31(2012)