

4.3 経時変化

その空間の性質による日常的な時間的変化がありうる。

- ① 建物種類、室内の業務・生活行動、メンテナンスなどによって、日常的な時間的変化がありうるの
で、これを把握しておくことが望ましい。

4.4 運転停止時の問題

ダクト系などは、送風機が停止していると、単なる開口部となり外部風圧あるいは室の圧力差によっ
て空気が勝手に流れる。一般のダンパーの閉鎖では密封は出来ない。

- ① 一般の空調用の設備では、ダンパーは閉鎖しても密封には程遠い状況である。送風機の運転を継続
するか、特に密封の操作を行う必要がある。
- ② したがって、送風機停止時には、かなりの空気が逆流することがありうると考えねばならない

5. 新設設計時の対策

5.1 設計上の基本的考慮

被曝量の予測と減少を図る。そのために

- (1) 発生源の評価と減少
- (2) 換気・希釈・浄化対策を図る。
- (3) 室内の気流による不均一分布を考慮する。
- (4) 発生した汚染物質を出来るだけ早く排出する。
- (5) 運転管理の安全と便宜を図る。

5.2 人体からの発生 (1)

- (1) 人からの発生では、咳、くしゃみ、会話などによっては放出される。
- (2) 体温に起因した自然対流で上昇する可能性が高い。
- (3) 咳などによってかなりの距離移行する可能性がある。

- ① 人からの放出量は、Duguidによれば、次表の通りである。

表 人からの菌放出量 (計算値)

| 唾液 1 ml 中の菌数 | 放出菌数 | | | | |
|--------------|------------|-----------|--------|-------|--|
| | 30,000,000 | 1,000,000 | 30,000 | 1,000 | |
| くしゃみ 1 回 | 62,000 | 4,600 | 150 | 5 | 放出時の大きさが 100 μm 以下で、直ちに蒸発して核化し、浮遊するものに限る。 |
| 咳 1 回 | 710 | 64 | 2 | 0 | |
| 1~100 を数える | 36 | 3 | 0 | 0 | |

Duguid, J.P.: J. of Hyg. Camb., 44(1946), 471

- ② 体温による上昇の影響はかなり大きいと思われる。
 ③ 室内の気流状態 (温度分布、気流分布、安定度など) によって到達距離は異なると思われる。

5.2 人からの発生 (2)

- (1) 人からは皮膚からの発生がある。
 (2) 衣類からの発生がある。
 (3) 行動によって発生する。

- ① 空中浮遊細菌濃度は、在室者密度に比例する場合が多い。
 ② 衣類からは、人からの細菌、環境的なカビ、非生物粒子、繊維などが発生する。
 ③ 人は行動によって、床などに沈積している菌類、非生物粒子類をまきあげる。
 ④ まきあげによる粒子は比較的大きく、5 μm 程度以上と考えられる。

5.3 機器備品等からの発生

- (1) 分析機器類
 (2) 医療機器類
 (3) 移動用設備 (コンベア、エレベータ等)
 (4) ロボット類

5.4 建材・建築設備機器類

- (1) 空調機器
- (2) ダクト
- (3) フィルタ
- (4) 給排水設備
- (5) その他

- ① 空調機器の汚染が SARS 感染に与える影響の大きさは不明である。
- ② 空中浮遊真菌はダクトからの放出によって大きく影響されると考えられる。
- ③ フィルター上には真菌が捕集され、振動や起動停止の衝撃によって放出される。
- ④ 汚水中に菌が放出される可能性があるため、排水設備からの汚水の漏洩には厳重な注意が必要である。

6 室内での拡散

6.1 一般気流による拡散と被曝量

- (1) 室内で発生した汚染は、拡散しながら全般的な流れに沿って流れる。
- (2) この汚染はあまり拡散せず、比較的濃い状態で流れる。
- (3) 発生源の位置と被曝点の位置で被曝量が大きく異なる。
- (4) 発生した汚染は、出来るだけ早く吸い込み口などから除去する。
- (5) 室内の流れに対して障壁、カーテン等を設けて、流れの拡散を妨げる。

- ① 在来の空調設計においては、室内の不均一分布はあまり考慮されないことが多かった。
- ② 吹き出し口の設計に主眼が置かれ、吸い込み口が軽視されていた。
- ③ 事務所や乗り物などのように在室者の位置が原則的に固定されている場合には、発生源と被曝所の相対的關係が大きな問題となる。上流側に発生源をおかないような対策を行うことがきわめて重要である。

6.2 吹き出し口との関係

位置関係と型式

ユニバーサル型

ノズル型

アネモ型

パンチメタル型

天井吹出・天井吸込型

c. 吸い込み口の影響

数と位置関係と被曝量
エアクリーナによる影響

d. 障害物の影響

衝立や障害物などの影響

e. 気流による巻き上げ

どの程度の気流で、どの程度の巻き上げが起きるか？

f. 落下による影響（どこまで影響するか？）

人の歩行などによって、どの程度の落下影響があるか？

どの高さまで影響するか？

8. 個々の技術的問題点

8.1 基本的課題

未だ不明の事項が多い。
環境中での感染の機構はどういうものなのか？
環境中（空中、物体表面など）での生残時間はいくらか？
物体表面などにどのくらい存在するのか？
空調装置にどのくらい存在し、どのくらい室内へ影響するのか？
ダクトへの沈着、放出はどうなのか？
環境的消毒はどうすればよいのか？
室間の汚染の交流はどのくらいあるのか？
室内での人の活動によって、どのくらい放出が起きるのか？

8.2 局所排気装置の開発

局所排気装置をどのようなものとすればよいか？感染のメカニズムによって決まってくるが、高度の密閉的なものから、比較的簡単なビニールテントのようなものまで考えられるが、どの程度まで簡略化が出来るか、どのような設備が使えるかなどの開発が課題である。実験動物分野及びバイオハザード分野での経験が利用できよう。

8.3 隔離の方法

室内の隔離についても、実験動物分野及びバイオクリーン業界、及び環境殺菌の技術の利用が可能であると思われる。どういう隔離がどういう場合に可能、あるいは必要か、そのための技術にどのような開発が必要かなどの課題がある。とくに、ある室が突然隔離を必要とするような場合には、新しい開発が必要であると考えられる。

バイオクリーンルーム、バイオハザード施設、化学物質過敏症対策施設などについての技術が利用できよう。ただし、どこまで簡略化できるかが重要な課題である。

8.4 室の気密性

室としての気密性については、既存室の気密化、あるいは気密性の評価などに課題があるが、これは建築の分野で省エネルギーなどの換気問題でかなりの蓄積がある。例えば、窓に流量計つきの排風機を設置し、室内圧と排風量の関係を求め、それから、相当開口面性を求める手法は確立している。これは測定方法であるが、感染防止のためには、前述の信頼性その他の条件が問題となり、開発が必要となろう。

8.5 室相互の汚染の交流

(1) 一般の建物では、床、壁、天井やそれらの接合部などには必ず空隙があり、室間の圧力差などにより汚染空気の交流がありうる。

(2) 空調ダクトなども、送風機停止時には開口となり、空気流通（逆流）の原因となる。

(3) 排水管は構造的には各室を連結しているので、排水トラップの封水が失われていると空気の逆流などが起こる可能性がある。

(4) 空調ダクトに一度排出されたものが再循環によって給気され、それが感染の原因となることは考えにくいですが、否定できない。

8.6 再飛散の可能性

(1) 物体表面、床面などに沈積付着したものは再飛散する可能性がある。

(2) 再飛散する粒子は、比較的大きく、 $5\sim 6\mu\text{m}$ 以上で沈積しやすい。

(3) 衝撃などで発散するが、あおられた気団に乗るという形で移動する。

(4) 人の移動や動き、清掃などの乱し行為が発散の原因である。

(5) 表面が平滑なほど発散しやすい。

8.7 空調設備の汚染の影響

- (1) 空調設備の内部、表面などで原因汚染が増殖するとは考えにくい。
- (2) ダクトなどの内部に空中浮遊状態から付着した SARS ウィルスが再放出されて感染させる可能性は不明である。
- (3) ダクト内部等で消化器由来の SARS ウィルス物質が付着した場合、増殖や放出がありうるかも知れない。
- (4) ダクト内や空調設備、コイル等の消毒が必要なことがありうる。

8.8 殺菌・消毒・清掃

既存の室内の殺菌・消毒をどうするかが課題である。殺菌剤・殺菌法などの手法については専門の環境殺菌の分野があり、その技術蓄積が利用できるのではないかと考えられる。日常的な清掃法についても考慮する必要がある。清掃作業は室内に沈積した汚染物質を巻き上げ、室内の空中菌濃度を上昇させる。ダクトの汚染は、もし生残時間が長いと問題となる可能性がある。特にレターンダクト及び給気ダクト、空調機器の清掃と消毒については、今後発生する可能性のある問題を含めて、技術的な方策を開発・確立しておく必要がある。

D. 考察

(1) 諸外国の SARS 感染問題の実状

もっとも経験の多い中国において調査し、同済大学範存陽教授をはじめ多数の権威者に聴取を行い資料の提供を得たことは、極めて有効であった。複雑な事情により感染の発生している状況が明らかになり、今後の対策に多くの示唆を得ている。

これまでに得られた資料・知見を更に整理展開し、わが国に最も適した対策を樹立することが出来ると考えられる。ただし、工学的な対応で、更に深い検討が必要な面が多く見られた。極めて緊急に行った判定・考察で、理論上も未だ不十分なものがあり、今後の進展が可能と考えられる。

(2) 建築空間における感染防止

建築の室内空間における感染防止は、古くから課題であって、かなりの関心もたれているが、建築環境工学的な定量的被曝量の予測という意味では必ずしも十分なデータが得られていたわけではなかった。

この理由は、建築学の体系が設計と建設の段階に焦点を当てており、実際の居住状態での問題点があまり考えられていなかったことにもよると考えられる。

建築物衛生の分野での文献を検索して140あまりを得ているが、更にこれらの検索と調査を進める必要がある。

建築空間の SARS 感染に関与している種々の問題を検討・整理した。

(3) 建築環境における被曝量の予測

建築環境においては、在来は一様拡散を前提とした被曝量が考えられ、一般の汚染物質では満足されていると考えられていた。SARS については

極めて短時間でも高濃度の被曝が起きれば、感染が発生するといわれるので、室内の不均一分布が大きい問題となっている。

この課題に対して、数値計算による解を求めることを図ったが、室内の気流の性状によっては計算が出来にくいことと、計算の基礎となるべき咳などの物理的性状が必要になった。

そこで、咳の性状についての実験的な検討が行われ、咳による粒子は2メートルを越える距離にまで到達される可能性があることがわかった。

これらの基礎的係数をもとに、いくつかの典型的な吹き出し口、吸い込み口の室内における汚染の分布状態の検討を行った。

(4) 対策上必要な機器の概念設計

更に検討をする必要があると思われる。

(5) SARS 感染防止対策マニュアル

さらに具体的な対策を積み上げるとともに、不明の事項についての基礎的な研究の蓄積が必要である。

E. 結論

(1) 諸外国の SARS 感染問題の実状

本研究では、SARS 感染例が最も多い中国を中心とした調査を行った結果以下の事柄を明らかにした。

- [1] 北京市と台湾における当初 SARS 流行の拡大には、人為的なミスという大きな要因があった。一方、上海市のように十分な備えがあれば SARS 流行を防止できることがわかった。
- [2] SARS-CoV の主な感染経路は接触と飛沫であり、マスクの着用や患者の隔離などといった従来の対策が有効である。
- [3] 香港のアモイガーデンと北京大学人民医院の事例に示唆されたように、特殊の場合において、SARS-CoV は高濃度・広範囲に拡散することがある。この場合において、換気（適正な気流計画と十分な換気量）による対策が有効になる。

現段階において、SARS の感染経路は飛沫と接触のほかには何かがあるかは必ずしも明らかにされていない。今後、建築衛生の視点から更なる調査及び気流解析と実験による検証を行う必要があると思われる。

(2) 建築空間における感染防止

建築の室内空間における感染防止は、古くから課題であって、かなりの関心もたれているが、建築環境工学的な定量的被曝量の予測という意味では必ずしも十分なデータが得られていたわけではなかった。

この理由は、建築学の体系が設計と建設の段階に焦点を当てており、実際の居住状態での問題点があまり考えられていなかったことにもよると考えられる。

建築物衛生の分野での文献を検索して 140あまりを得ているが、更にこれらの検索と調査を進

める必要がある。

建築空間の SARS 感染に関与している種々の問題を検討・整理した。

(3) 建築環境における被曝量の予測

本節では室内環境における SARS ウィルスの気中濃度、室内物体表面濃度を予測することを目的とし、文献調査、実験、コンピューターを用いた流体シミュレーションにより検討を行った。

- 1) 咳による吐出空気量と吐出速度において、個人差があるが咳の吐出空気の容積は 0.8~2.2L の範囲にあり、平均的に約 1.4L である。咳の吐出速度は 6~22m/s 以内に分布し、平均的に約 11.2m/s である。咳の気流の可視化実験により、咳の影響範囲が 2m 以外に及ぼすのが分かった。
- 2) 人体から定常吐出されるエアロゾル汚染質の人体周辺濃度において、待合わせ室の場合、空調反対側の人体が咳をすると、室内全体的にエアロゾル濃度が大きい。しかし、病室の場合は空調の掛け場所に関わらず、室内全体的にエアロゾル濃度がほとんど変わらない。
- 3) 病室における排気口位置の違いによる清浄度において、天井排気方式で排気口 2 個を設置した場合が、天井に排気口 1 個や 4 個を設置した場合や床面近傍排気方式に比べて人体顔周辺の平均空気齢及び平均空気余命、呼吸の平均濃度が一番低い値となった。また、床面近傍に排気口 4 個を設置した場合は他ケースに比べて換気効率が一番高く、実際病室ではベッド以外様々な什器が床面に置かれている場合が多いため、より換気効率が悪くなる可能性が高い。

(4) 対策上必要な機器の概念設計

現状市販されている対策機器は多数あるが、以

下の項目について改善されることが望ましい。

- ⑥ 除去フィルタ上の微生物の増殖防止
- ⑦ 装置の性能チェック機能の装備
- ⑧ 使用後の装置は消毒可能な構造、材料とする
- ⑨ 取り付け簡単であること
- ⑩ 安価であること

(5) SARS防止に関する建築衛生的マニュアル

建築物衛生という意味で、SARS感染防止上のマニュアルを作成した。今後更に改善する必要がある。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）

分担研究報告書

SARS コロナウイルスの安定性・抵抗性に関する基礎的研究

分担研究者 山田章雄 国立感染症研究所獣医科学部 部長
協力研究者 棚林 清 国立感染症研究所獣医科学部 室長
巽 正志 国立感染症研究所獣医科学部 主任研究官
藤田 修 国立感染症研究所獣医科学部 研究員

研究要旨 SARS コロナウイルスの環境中での安定性・抵抗性を明らかにすることを目的に、まず、リアルタイム PCR 法を用いたウイルス遺伝子の検出法を開発した。各種条件で保存したウイルスの感染価は、冷蔵保存 4 週間でもほとんど低下せず、室温保存でも 3 週間残存した。プラスチック表面での乾燥状態でも、長期間生残することがわかった。また、ウイルス遺伝子は感染価が検出限界以下でも検出された。他のコロナウイルスも同等の安定性であった。経口感染が起こるかを調べるためにカニクイザルをモデルとして感染実験を行ったが明らかな感染及びウイルス排出は認められず、新たな動物モデルが必要と考えられた。国内飼育のハクビシンの糞便についてウイルス分離と遺伝子検出を行ったがいずれも陰性だった。

A. 研究目的

患者から排出された SARS コロナウイルスが環境中で生残し、感染源となる可能性があるのかを検証するために、1) ウイルス検出方法の確立、2) 培養細胞で増殖させたウイルスを各種条件で保存した場合のウイルスの生残性および他のコロナウイルスとの比較、3) カニクイザル実験感染モデルでの経口感染の可能性の検証および糞便へのウイルス排泄や環境中での生残性を検証することを本研究の目的とした。また国内ハクビシンの感染の有無についても検査した。

B. 研究方法

(1)リアルタイム PCR による SARS コロナウ

イルス遺伝子検出系の構築

SARS コロナウイルス (HKU39849 株、香港大学より国立感染症研究所に分与された) 液より RNA 抽出キット (RNeasy Mini Kit, QIAGEN) にて RNA を抽出し、オリゴ dT またはランダムヘキサマープライマーと SuperScript II 逆転写酵素を用いて逆転写し cDNA を合成した。LightCycler330 システム (Roche) を用いたリアルタイム PCR を行うために、公表された塩基配列情報をもとに SARS コロナウイルス N 遺伝子をターゲットにした増幅用プライマーおよび蛍光標識プローブを LightCycler Probe Design Software ver.1 (Roche Applied Science) を用いて設計し作製した。

Primer1: 5' -GGCAAGGAGGAAGCTTAGA-3'

Primer2: 5' -GTTATTAGGATTGCGGGTG-3'

Probel (3' fluorescein):

5' -CCCTACGGCGCTAACAAAG-3'

Probe2 (5' LC-Red640):

5' -AGGCATCGTATGGGTTGCA(phosphate)-3'

反応は図 1 の組成および条件で実施した。検出感度は SARS コロナウイルス N 遺伝子 cDNA フラグメント濃度およびウイルス感染価から算出した。特異性の検討は他のコロナウイルス (ヒトコロナウイルス OC43、マウス肝炎ウイルス、ブタ伝染性胃腸炎ウイルス、Human Enteric Coronavirus) RNA から合成した cDNA について実施した。

(2) 環境中での SARS コロナウイルスの安定性

VeroE6 細胞で増殖させた SARS コロナウイルス HKU39849 株を 2%牛胎児血清加細胞培養液にて分注し、冷蔵 (4℃) または室温 (20℃) に保存した。残存する感染価の測定は、検体を 10 倍階段希釈し、VeroE6 細胞を培養した 96 穴マイクロプレートに接種して、3 日間培養し細胞変性を観察して Reed-Muench 法により感染価を算出した。ウイルスゲノムの検出は、検体より RNA を抽出し、cDNA 合成後上述のリアルタイム PCR 法により行った。また、比較のためにマウス肝炎ウイルス (JHM 株)、ブタ伝染性胃腸炎ウイルス (h-5 株) についても残存する感染価をそれぞれの感受性細胞 (DBT 細胞、ST 細胞) にて測定した。さらに、プラスチック表面またはろ紙にウイルス液を塗布乾燥させた状態で保管し、一定期間後に培養液に溶出させて残存するウイルス感染価を測定した。

(3) 実験用カニクイザルへの経口的感染

カニクイザル 2 頭 (オス 3 歳 5 ヶ月、

2.39Kg およびオス 2 歳 10 ヶ月、2.60Kg、国立感染症研究所筑波霊長類センター産) に SARS コロナウイルス (HKU39849 株 10⁸ TCID₅₀) をカテーテルにて胃内投与し、臨床観察をするとともに糞便材料から 10%乳剤を調整しその遠心上清を VeroE6 細胞に接種しウイルス分離と上述のリアルタイム PCR による遺伝子検出を行った。また、国立感染症研究所にて同時に実施されていた経鼻実験感染カニクイザル 1 頭の 1 週間後の剖検材料のうち腸管内容物についてウイルス分離と遺伝子検出を行った。ウイルス投与、飼育観察、検体の採材およびウイルス抗体測定は、国立感染症研究所ウイルス 1 部、3 部、感染病理部、動物管理室の研究グループにて行われた。

(4) ハクビシン等の糞便からの SARS コロナウイルスの分離及び遺伝子の検出

国内 5 施設において飼育 (保護または購入、出生) されているハクビシン等の糞便 13 検体 (16 頭、内 1 頭は Jerdon' Palm Civet) について VeroE6 細胞を用いたウイルス分離とリアルタイム PCR による遺伝子検出を試みた。

(倫理面への配慮)

カニクイザルを用いた感染実験については国立感染症研究所動物実験委員会の承認を受け動物実験の倫理に配慮して行った。

C. 研究結果

(1) リアルタイム PCR による SARS コロナウイルス遺伝子検出系の構築

SARS コロナウイルス (HKU39849 株) 液より抽出した RNA を、オリゴ dT またはランダムヘキサマーをプライマーとして逆転写した cDNA について LightCycler330 システム

(Roche)を用いたリアルタイム PCR を実施したところ、検出感度は SARS コロナウイルス N 遺伝子 cDNA フラグメント濃度から約 10 コピー、またウイルス感染価から 0.1TCID₅₀ 相当を検出することができることと算出された (図 2)。特異性の検討は他のコロナウイルス (ヒトコロナウイルス OC43、マウス肝炎ウイルス、ブタ伝染性胃腸炎ウイルス、ヒト胃腸炎コロナウイルス) RNA から合成した cDNA について実施し、いずれも陰性対象の蒸留水と同様に非特異的反応認められなかった。

(2) 環境中での SARS コロナウイルスの安定性

SARS コロナウイルスを 2%牛胎児血清を含む培養液中で冷蔵 (4℃) または室温 (20℃)、4 週間まで保存し、経時的に残存する感染価測定した。冷蔵保存した場合は 21 日後でもほとんど感染価の低下は認められず (0 日 : 10^{5.7}TCID₅₀, 21 日 : 10^{5.3})、28 日後ではわずかに低下した (10^{4.7})。室温保存では 7 日 (10^{4.0})、14 日 (10^{2.7})、21 日 (10^{0.5}) と徐々に低下し 28 日後では検出限界以下となった (図 3a)。また、ウイルス遺伝子は感染価が検出限界以下となった室温保存の 21 日および 28 日でも陽性となった (図 3a, RNA+)。比較のためにマウス肝炎ウイルス (MHV, JHM 株)、ブタ伝染性胃腸炎ウイルス (TGEV, h-5 株) についても残存する感染価をそれぞれ測定した結果、TGEV は SARS コロナウイルスと同等の安定性を示したが、MHV はやや低い傾向にあった。(図 3b)。

ウイルスが環境中に排出され放置した場合を想定して、プラスチック表面またはろ紙にウイルス液を塗布し、1 時間安全キャビネット内で乾燥させた後、一定期間冷蔵

および室温保存した。培養液に溶出させて残存するウイルス感染価を測定したところ、プラスチック表面で冷蔵保存した場合は 21 日までに徐々に低下し約 100 分の 1 となった (図 4、4C)。室温保存した場合は 14 日までに検出限界以下に低下したが、ウイルス RNA は 21 日保存でも検出された (図 4、RT, RNA+)。ろ紙に塗布し乾燥し場合は、直後の検体でも添加した培養液に回収されず保存の実験はできなかった。また、MHV, TGEV についてもプラスチック表面またはろ紙に塗布した場合の安定性を測定する試みを実施したが、乾燥直後でも感染価は限界以下であった。

(3) 実験用カニクイザルへの経口的感染と糞便からのウイルス分離

4 週間の観察期間中、ウイルス投与されたカニクイザル 2 頭ともに、呼吸器や下痢等の症状を呈することなく経過した。ウイルス投与後 1、2、4、8、10、14、17 日目の便からウイルス分離および遺伝子検出を試みたが陰性だった。また、抗体上昇も認められなかった。ただし、1 頭の糞便材料では VeroE6 細胞で細胞変性が認められたが、電子顕微鏡観察および抗アデノウイルス抗体を用いた蛍光抗体法によりアデノウイルスであった。

経鼻感染 1 週後のカニクイザルの消化管内容物からのウイルス分離を実施したところ回腸内容物材料を接種した VeroE6 細胞で細胞変性が認められ RT-PCR およびリアルタイム PCR により SARS コロナウイルスと同定された。また、ウイルス遺伝子検出は胃、小腸、回腸内容物で陽性だったが大腸内容物からは検出されなかった。

(4) ハクビシン等の糞便からの SARS コロ

ナウウイルスの分離及び遺伝子の検出

国内で飼育されているハクビシン等の糞便13検体(16頭)についてVeroE6細胞を用いたウイルス分離とリアルタイムPCRによる遺伝子検出を試みたが、いずれの検体においてもウイルス分離、遺伝子検出は陰性であった。

D. 考察

SARS コロナウイルス遺伝子検出のためのリアルタイムPCR法を構築できた。本方法は先に販売された検出キット(RealArt HPA-Coronavirus LC RT PCR Reagents (artus, Takara))と比較して高感度であったが、現法ではcDNA合成とPCR増幅検出の2段階が必要で改良の余地が残されている。

本ウイルスの培養液中およびプラスチック表面で乾燥させた場合における安定性を室温と冷蔵条件で検討したところ冷蔵では4週間を超えて感染性が保持された。経口感染が起きた確実な事例は無いものの、ヒトの接触する可能性のある器具や冷蔵保管される非加熱食材等が汚染され場合には問題となる可能性があり現実的な汚染状況を模したウイルスの安定性および除洗方法等の検討も必要とおもわれる。また、他のコロナウイルスとの安定性の比較においては少なくともTGEVとは同等でありSARSコロナウイルスが特に安定であるとはいえないと考えられた。

環境に排泄されたウイルスによる経口的感染の可能性を検証するためにカニクイザルをモデル動物として感染実験を行ったが、ウイルスの胃内投与では期待された感染は起こらず目的は達成できなかった。本ウイルスのレセプターがangiotensin

converting enzyme 2 (ACE2)であるとの報告がなされたため、プレリミナリな結果であるが、SARSコロナウイルス非感受性のHeLa細胞にACE2を発現させた細胞にウイルスを感染させたところウイルス増殖が起きることを確認した。このことは、レセプター発現トランスジェニックマウスの作出は、感染モデルマウスとしての利用の可能性が高いと思われるため実験を進行中である。

中国においてハクビシンからSARSコロナウイルスが分離されヒトへの伝播源として疑われた。現状で国内の動物に感染した可能性は低いと考えられたものの国内にも生息し、また飼育されている動物についての不安があることから厚生労働本省からの依頼でハクビシン便からのウイルスおよびウイルス遺伝子の検出に本研究中に実施した手技方法が応用できた。

E. 結論

(1)SARSコロナウイルスN遺伝子を対象に逆転写反応とLightCycler330を用いたリアルタイムPCR法で0.1感染価(TCID₅₀)相当を検出でき、他のコロナウイルスとの交差反応の無いウイルス遺伝子検出系を確立した。

(2)SARSコロナウイルスを培養液中やプラスチック表面に乾燥させた場合も冷蔵では4週間以上感染性が残存していた。他のコロナウイルスと同等だった。

(3)カニクイザル2頭にSARSコロナウイルスを胃内投与したが、呼吸器や下痢等の症状を呈することなく経過し、糞便中からのウイルス分離および遺伝子検出も陰性であり、新たな動物モデルが必要と思われる

た。

(4) 国内で飼育されているハクビシン等の糞便 13 検体 (16 頭) についてウイルス分離と遺伝子検出を行ったが陰性だった。

F. 健康危険情報

特記なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし


LightCycler 反応液組成

1 μ l cDNA
2 μ l reaction mix*
1.6 μ l 25mM MgCl₂
1 μ l 10pmol/ μ l primer1
1 μ l 10pmol/ μ l primer2
1 μ l 4pmol/ μ l probe1
1 μ l 8pmol/ μ l probe2
11.4 μ l H₂O
Total 20 μ l in reaction capillary

*LightCycler-Fast Start DNA
マスターハイブリダイゼーションプローブ
(Roche Diagnostics, Germany)

LightCycler 反応プログラム

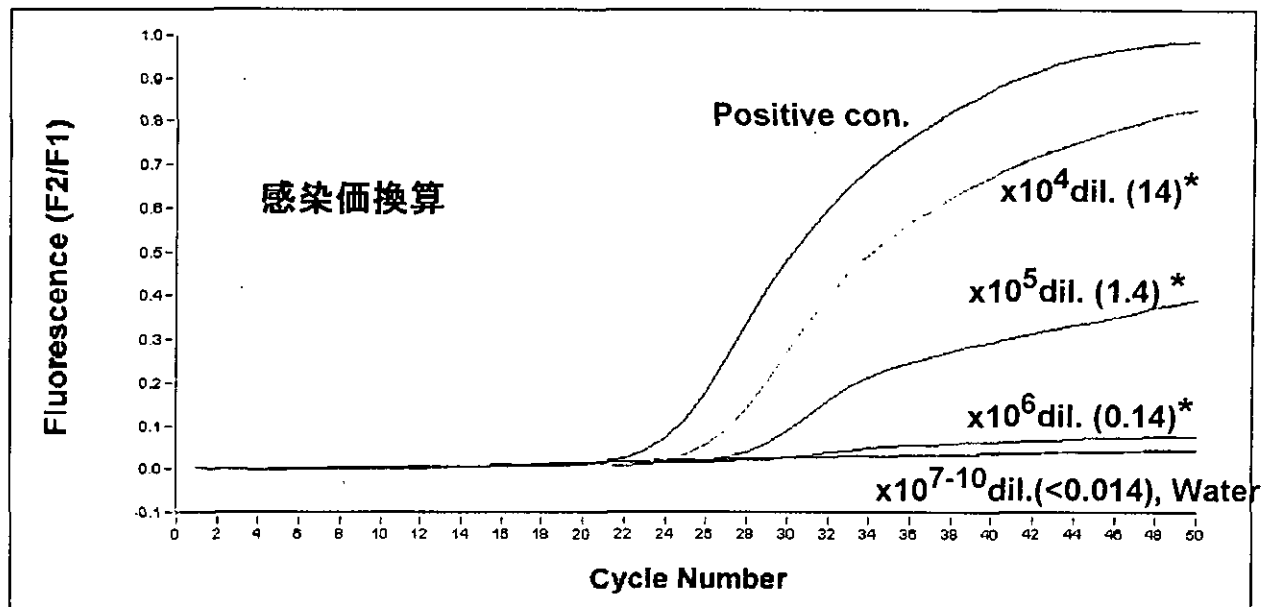
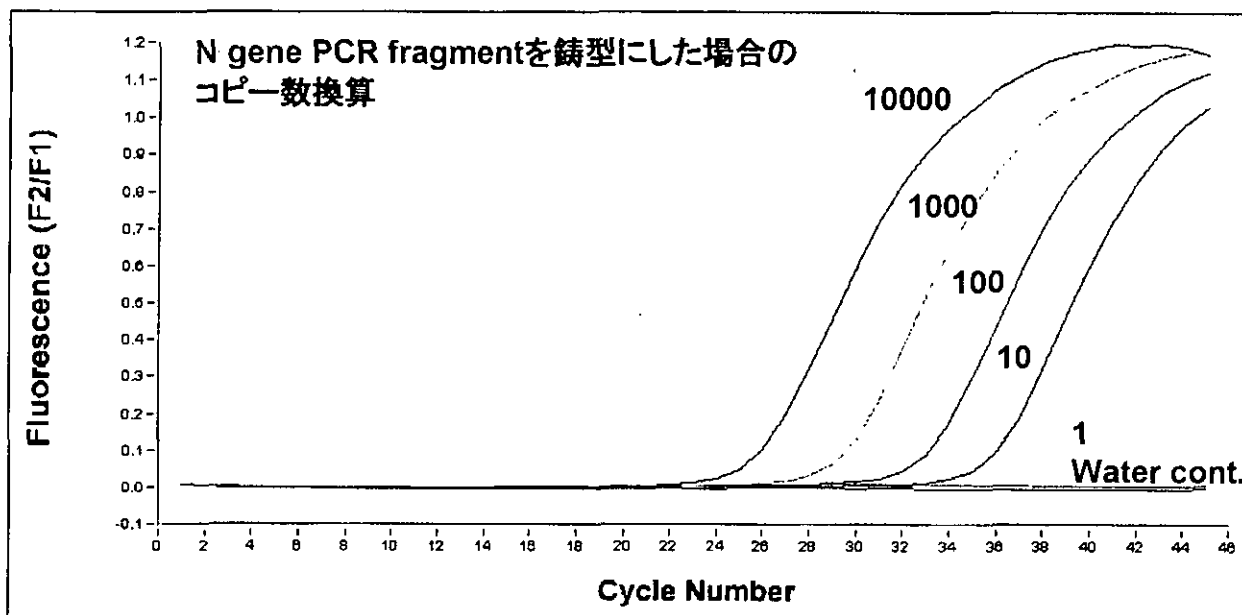
95°C, 10 min
95°C, 10 sec
56°C, 15 sec
72°C, 10 sec



45cycle

Total 44 min

図1 LightCyclerを用いたSARS-CoV N遺伝子検出系反応組成とプログラム



*(感染価TCID₅₀)

図2 LightCyclerを用いたSARS-CoV N遺伝子検出系の感度

図3a

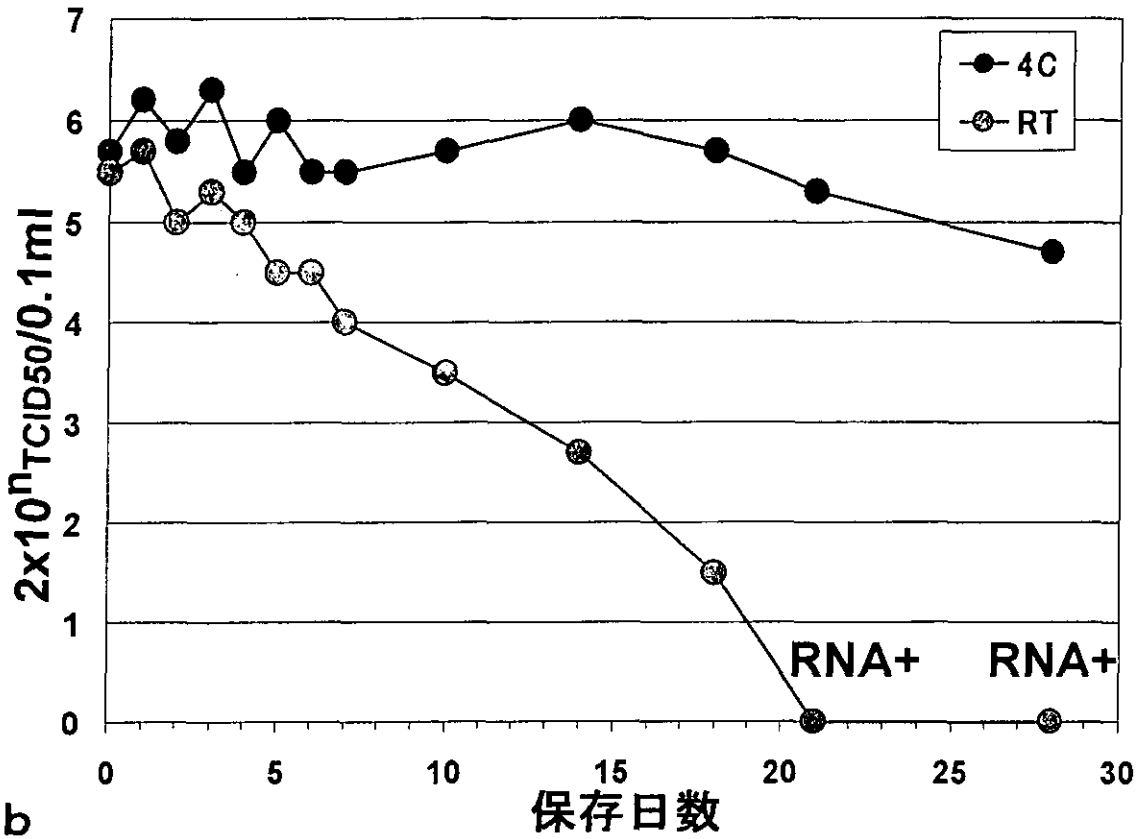


図3b

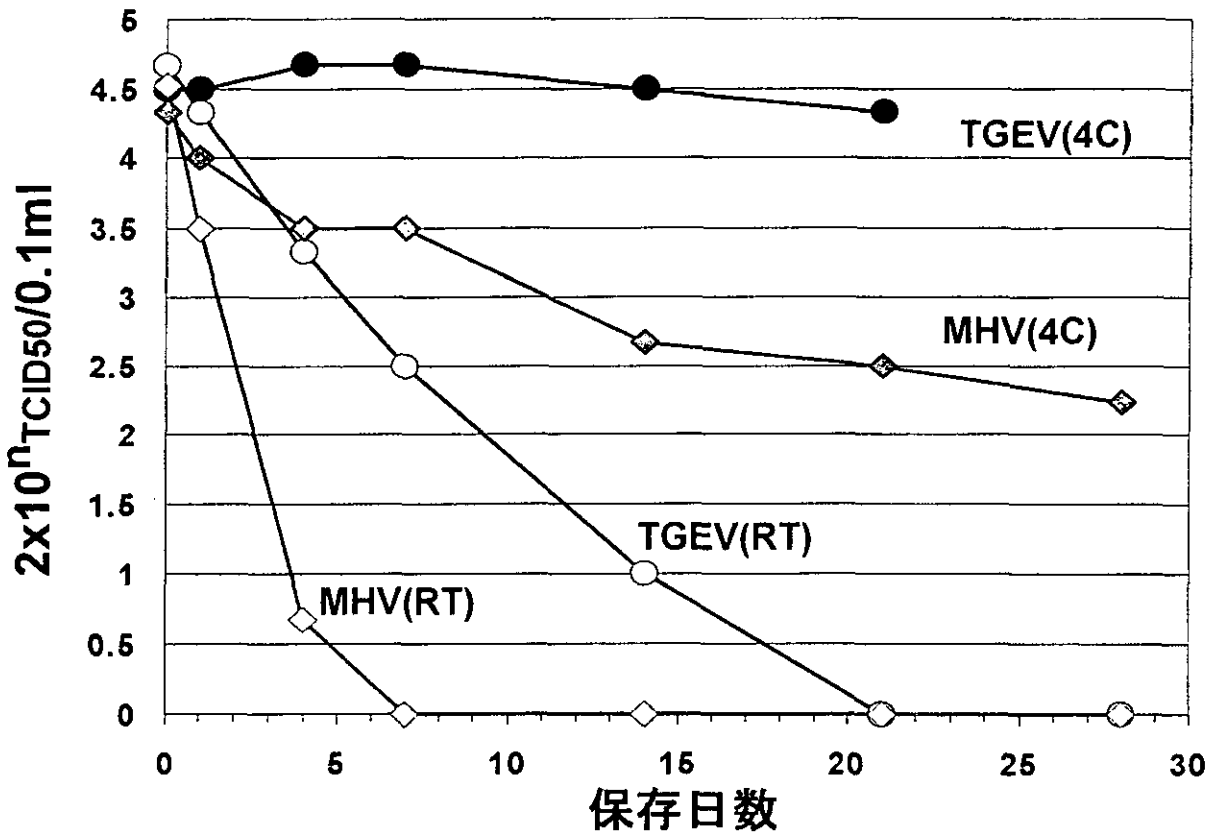


図3 SARSコロナウイルス(a)、ブタ伝染性胃腸炎ウイルス(TGEV)、マウス肝炎ウイルス(MHV)(b)の培養液中での生残性

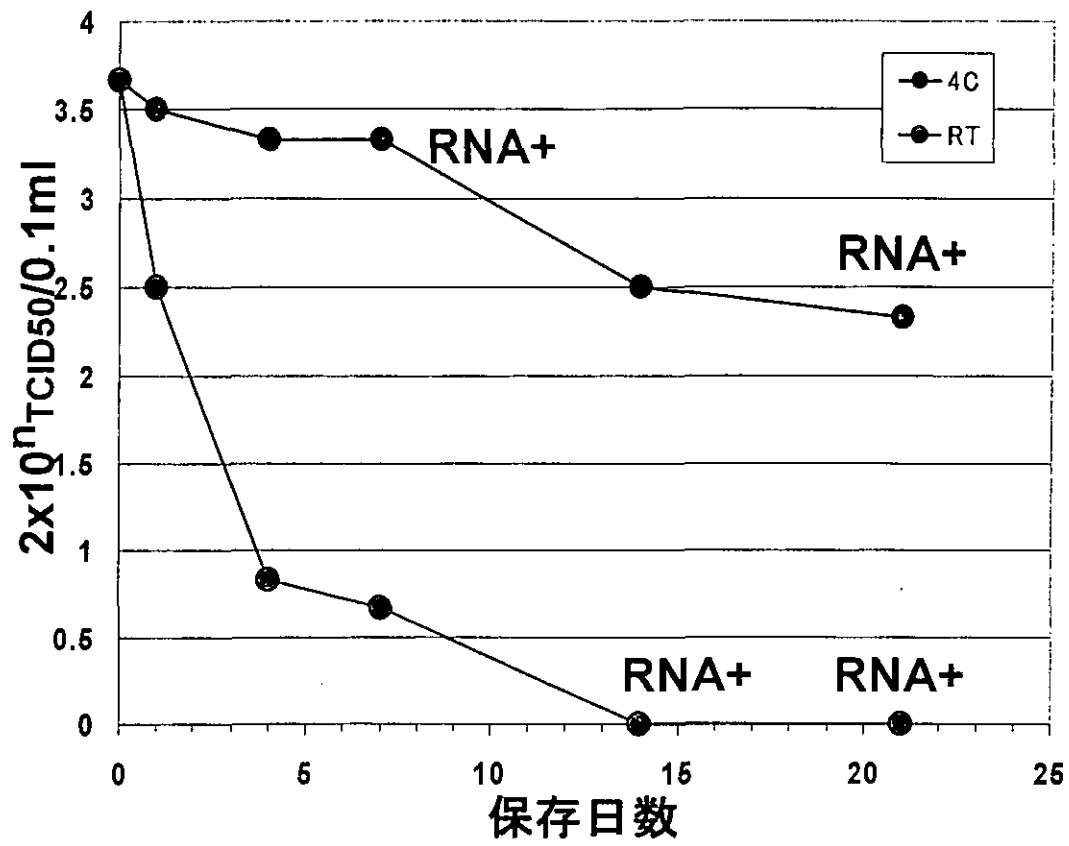


図4 SARSコロナウイルスの生残性(プラスチック乾燥)