

厚生労働行政推進調査事業費補助金

新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業

感染症法に基づく消毒・滅菌の手引きの改訂に関する研究

令和2年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 花木 賢一

令和4（2022）年 5月

目 次

I. 総括研究報告	
感染症法に基づく消毒・滅菌の手引きの改訂に関する研究	1
花木賢一	
II. 分担研究年度終了報告	
1. 動的光散乱法解析による候補物資の選抜に関する研究	9
花木賢一	
2. 薬剤による新型コロナウイルス不活化条件に関する研究	17
森川茂	
3. インフルエンザウイルス、229E, OC43 ヒト・コロナ ウイルスの不活化条件の検討	23
西村秀一	
4. 各種ウイルスに対する不活化効果検証法の確立に 関する研究	27
早坂大輔	
5. 新型コロナウイルス等の消毒・滅菌法に関する文献等調査	31
黒崎陽平	
6. 個人防護具の再利用を可能にする新たな消毒方法の 確立に関する研究	35
河合康洋	
7. 新型コロナウイルスの不活性化評価系の改良と有効 物資探索に関する研究	37
高木弘隆	
8. 新型コロナウイルスとインフルエンザウイルスに有効 な消毒法に関する研究	43
伊木繁雄	
9. 温湿度統御下における新型コロナウイルスの生存性 に関する研究	49
原田俊彦	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	51

厚生労働行政推進調査事業費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
（総括）研究報告書

感染症法に基づく消毒・滅菌の手引きの改訂に関する研究

研究代表者 花木 賢一 国立感染症研究所安全実験管理部長

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の国内流行により、消毒薬や個人防護具（PPE）、特にマスクの供給不足が社会問題となった。独立行政法人製品評価技術基盤機構（NITE）は雑品から新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）に汚染されたモノの消毒に有効な物資を選定して公表したが、それらは一般国民向けを想定したもので、医療現場や介護施設向けではなかった。そこで、医療現場や介護施設で参照される「COVID-19の消毒・滅菌の手引き」の策定、さらに「感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き」の改訂を行うことを目的として研究を実施した。そして、ウイルスの不活化が粒子破壊による場合には有効性評価に動的光散乱法（DLS）解析が応用できること、塩素系消毒薬はウイルス液に含まれるアミノ酸の影響を受けて有効性が過小評価されていたこと、クエン酸がSARS-CoV-2の消毒剤として有効な物資となること、第四級アンモニウム塩の一つで口腔用薬の主成分であるドミフェンブロミドが塩化ベンザルコニウムと同等の有効性があること、空気中のウイルスの不活化に用いるオゾンガス、二酸化塩素ガス、および次亜塩素酸ガスの使用条件、PPEの消毒に用いる過酸化水素ガスの条件、環境中のSARS-CoV-2の生残性は夏季に短いこと等を明らかにした。

研究分担者

森川茂・岡山理科大学獣医学部教授
西村秀一・国立病院機構仙台医療センター臨床研究部ウイルス疾患研究室長
早坂大輔・国立大学法人山口大学共同獣医学部教授
黒崎陽平・国立大学法人長崎大学高度感染症研究センター准教授
河合康洋・国立感染症研究所安全実験管理部第一室長
高木弘隆・国立感染症研究所安全実験管理部主任研究官
伊木繁雄・国立感染症研究所安全実験管理部主任研究官
原田俊彦・国立感染症研究所安全実験管理部主任研究官

A. 研究目的

令和2年1月末にWHOが国際緊急事態宣言を出したCOVID-19は、わが国では同年2月に「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（感染症法）」の指定感染症に指定され、令和3年2月より新型インフルエンザ等感染症へ変更されている。その間、感染状況の沈静化、変異株出現と流行株置換による感染再拡大がみられ、現在も全国で新規感染者の報告が続いている。感染症の伝播抑制には、病原体で汚染された機器、環境の消毒・滅菌を適切かつ迅速に行う必要がある。感染症法第27条及び第29条に基づく病原体に汚染された場所等の消毒・滅菌は、平成30年12月27日付で改訂された「感染症法に基づく消毒・滅菌

の手引き」によって行われ、COVID-19 へは重症急性呼吸器症候群 (SARS)・中東呼吸器症候群 (MERS) の記載が準用されている。しかし、SARS-CoV-2 は他のウイルスと不活化条件の異なる例が報告されている。

COVID-19 の流行により消毒薬の需要が高まり、その供給不足が社会問題となった。そこで、NITE は雑品から SARS-CoV-2 に汚染されたモノの消毒に有効な物資を選定して令和 2 年 6 月に公表した。同様の物資の公表は海外でも行われている。しかし、未検証の物資が多く残されており、市中には SARS-CoV-2 の消毒効果を検証することなく、その有効性を謳う物資が出回っている。そこで、本研究は①SARS-CoV-2 に対する一般的な消毒・滅菌方法の条件を実験的に明らかにすること。②マスクや防護服といった PPE の再利用に資する新たな消毒方法を確立すること。そして、それらを基に③COVID-19 の消毒・滅菌の手引きを作成することを目的とする。併せて、④COVID-19 パンデミックによる消毒薬等の需給逼迫を省み、他の感染症についても「感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き」に記載されていない消毒・滅菌方法の追加が必要であり、主に文献調査を行って手引きを改訂することを目的とする。

B. 研究方法

1. ウイルスと細胞

本研究で用いたウイルスは SARS-CoV-2 (NIID 512, WK-521, QK002, TY8-612)、ヒトコロナウイルス (229E, OC43)、マウスコロナウイルス (MHV; JHM, NuA, F-

2D, S)、ネココロナウイルス、ブタ伝染性胃腸炎 (TGE) ウイルス、インフルエンザウイルス (A/H1N1, A/H3N2, B)、重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルス、コクサッキーウイルス、エンテロウイルス、ネコカリシウイルス、日本脳炎ウイルス、デングウイルス、トフラウイルスである。そして、SARS-CoV-2 は TMPRSS2 発現 Vero E6 (VeroE6/TMRPSS2) 細胞、229E ウイルスはアカゲザル腎臓細胞由来 LLC-MK2 細胞、OC43 ウイルスはヒト直腸腺癌由来 HRT-18 細胞、マウスコロナウイルスはマウス脳腫瘍由来 DBT 細胞、ネココロナウイルスはネコ単核球由来 fcwf-4 細胞、インフルエンザウイルスはイヌ腎臓尿管上皮細胞由来 MDCK 細胞で培養する等、それぞれのウイルスの培養に最適な培養細胞を用いて増殖させて実験に供した。また、ウイルス感染価は 50% 組織培養細胞感染率 (TCID₅₀)、プラーク形成単位 (PFU)、またはフォーカス形成単位 (FFU) により算定した。

2. 薬剤等

SARS-CoV-2 の不活化試験に用いた薬剤等は、次亜塩素酸水、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS)、ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム (SDIC)、塩化ベンザルコニウム (BZC)、塩化セチルピリジニウム (CPC)、エタノール (EtOH)、次亜塩素酸ナトリウム (NaClO)、有機酸 (クエン酸、酢酸、シュウ酸、リンゴ酸、酒石酸、グルコン酸)、石鹼である。

SARS-CoV-2 以外のウイルス不活化試験に用いた薬剤等は、オゾンガス、二酸化塩素

ガス、次亜塩素酸ガス、BZC、塩化ベンゼトニウム (BZN)、CPC、ドミフェンブロミド (DB)、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム、加速化過酸化水素 (AHP)、過酸化水素である。

3. 紫外線

光源には 222nm LED ランプ、254nm 水銀ランプ、254nm LED ランプ、UV-C (260nm) ランプ、265nm LED ランプ、275nm LED ランプ、280nm 水銀ランプを用いた。

4. DLS 解析

DLS 解析は粒子径・ゼータ電位測定装置 Zetasizer Ultra (Malvern) により実施した。試料合計 1ml を 12mm 角ポリスチレンセルに入れてストッパーで密封し、セルホルダーにセットした後に多角度動的光散乱法により測定した。候補物資のスクリーニングでは、セルに 0.9ml の 0.3% BSA 加ウイルス液 (ウイルス液 : 3% BSA : PBS = 0.05ml : 0.1ml : 0.75ml) を入れ、DLS 解析を行う直前に 0.1ml の候補物資溶液を加えて軽くピペッティングし、1 分間静置した後に測定した。

5. 消毒ガス

25 m³の密閉空間中に低濃度の二酸化塩素ガス、オゾンガスまたは次亜塩素酸ガスを発生させ、ネブライザーでウイルスのエアロゾルを発生させて一定時間経過後、空中浮遊ウイルスをゼラチン膜フィルター上に回収し、環境表面並びに空中から回収されたウイルスの感染価を測定した。なお、ウイルスにはインフルエンザウイルス、229E ウイルス、OC43 ウイルスを用いた。

6. 過酸化水素蒸気

N95 マスク等の PPE を再利用するための消毒方法として、ミストジェネレーター、密閉容器、過酸化水素濃度を測定するためのセンサーモジュール、エアーポンプから成るミスト発生除染装置を製作し、チャンバー内に静置した N95 または DS2 規格のマスクを種々の濃度の過酸化水素水を用いてミストを発生させて任意の時間暴露し、強制換気後にそれぞれのマスクにおける残留過酸化水素を過酸化水素簡易測定器により測定した。また、チャンバー内にはバイオリジカルインジケータとケミカルインジケータを設置し、除染効果の判定に用いた。

7. 環境表面のウイルス感染価

環境中のウイルス感染価の推移は、プラスチック、ステンレス、木材等の基板にウイルス液を接種し、温湿度統御下または非統御下で一定時間静置した。ウイルスは培地に再溶解させて回収し、感染価を測定した。

8. 文献調査

「感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き」に記載されている物資を整理し、それ以外のもので国内にて利用可能な物資の探索、WHO をはじめとする海外機関が公開する実験室バイオセーフティ指針に記載されている消毒・滅菌法に関する情報収集、高病原性ウイルスを対象とした消毒・滅菌法に関する学術論文からの情報収集を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は人を対象とする医学系研究、遺伝子治療等臨床研究に該当せず、ヒトゲノム・遺伝子解析、動物実験を含まない。そのため、倫理面の問題はない。

C. 研究結果

1. 塩素系消毒薬評価における溶媒の影響

令和2年に次亜塩素酸水の SARS-CoV-2 の消毒効果について NITE や大学等研究機関が検証実験を行って公表した。しかし、実施機関毎に実験条件が異なるために有効性の結果にばらつきがみられた。その原因として、次亜塩素酸水の有効塩素濃度はウイルス液と混合させる前に確認するのみで、ウイルス液と混合させた後の有効塩素濃度について確認していないこと、ウイルス液に有効塩素濃度を下げる物質の存在が考えられた。そこで、SARS-CoV-2 の培養で用いる培地 (DMEM) を蒸留水で 100 倍希釈したもの 20 mL と 1,000 ppm の次亜塩素酸ナトリウム 0.2 mL を混合すると、有効塩素濃度は理論値の 1/70 に止まった。そこで、Sephadex G25 カラムを用いた限外濾過法によりウイルス液の溶媒である DMEM を生理食塩水へ置換してウイルス液：次亜塩素酸水=1：19 で 1 分間処理すると、有効塩素濃度 5 ppm であっても SARS-CoV-2 の感染価は検出限界未満になった。

2. SDIC

SDIC もまた NITE が SARS-CoV-2 の消毒効果について検証実験を行っているが、感染価測定で培養細胞を用いることからシアヌル酸の細胞毒性が問題であった。そこで、シアヌル酸を除去するための吸着レジンを検討し、最適なレジンを採用した試験系により SDIC は NaClO と同等以上の SARS-CoV-2 の不活性化効果を発揮することが明らかになった。

3. 有機酸

NITE の検証実験において、SARS-CoV-2 が酸性の次亜塩素酸水により効果的に不活化されることが示され、SARS-CoV-2 の不活性化に酸性条件が相乗効果をもたらしていると考えられた。そこで、雑貨として入手可能な有機酸による SARS-CoV-2 の不活化効果を検討した。クエン酸、リンゴ酸、酒石酸、グルコン酸において、グルコン酸の不活化効果はわずかであったが、他の有機酸は十分な不活化効果を認め、クエン酸では 100 mM 以上で 60 秒以内に 4 桁以上の感染価減衰が確認された。また、酢酸、クエン酸、シュウ酸について、pH を 2, 4, 6 に調整して SARS-CoV-2 の不活化効果を検討した。その結果、シュウ酸は pH2 でわずかな不活化効果を認めたが、酢酸は pH2 と pH4、クエン酸では pH2 で検出限界以下まで SARS-CoV-2 の不活化効果が確認された。

4. 紫外線

紫外線では従来の 254nm 水銀ランプと同様の SARS-CoV-2 不活化効果を 265nm 深紫外線 LED ランプで認めた。なお、OC43 ウイルスでは 254nm よりも 275nm の波長の紫外線で有意に高いウイルス不活化効果が認められたこと、β コロナウイルス属 (SARS-CoV-2) は α コロナウイルス属 (TGEV) よりも UV-C に対して非常に感受性が高いことが明らかになった。

5. DLS 解析による薬剤等スクリーニング

SARS-CoV-2 の代用として MHV に対する第四級アンモニウム塩 (QAC) の有効性を 0.3% ウシ血清アルブミン存在下で 1 分間反応させて DLS 解析により評価した。QAC

は 0.5%溶液の 2 倍希釈液を調製して用いた。その結果、0.0625%以上の BZC、BZN、及び DB は有効であったが、CPC は 0.5%でも無効であった。QAC 以外では 1/10 容 (0.425%) AHP は有効であったが、1.5%過酸化水素水、0.5%直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウムは無効であった。

6. 空中浮遊ウイルスの不活化

空中に浮遊するインフルエンザウイルス、229E ウイルス並びに OC43 ウイルスの何れも感染力の維持に湿度依存性があることを確認された。そして、空中浮遊インフルエンザウイルスと OC43 ウイルスは低濃度オゾンで湿度依存的に感染力が低下すること、低濃度二酸化塩素については比較的高い湿度が必要で、湿度依存的に感染力が低下することを確認した。一方、低濃度次亜塩素酸ガスは湿度非依存性で空中に浮遊するウイルスの感染力が低下することを確認した。

7. 過酸化水素蒸気

PPE、特に N95 または DS2 マスクを再利用するための安価な装置を試作し、過酸化水素蒸気の有効性と実用性を検討した。装置の仕組みはミスト発生装置で過酸化水素蒸気を発生させ、密閉容器内の過酸化水素濃度は蒸気供給源である過酸化水素水の濃度で制御する。ウイルスが不活化できるまでの時間、密閉容器内の過酸化水素濃度を一定に保ち、その後は強制換気により PPE に残留する過酸化水素を除去するというものである。そして、バイオリジカルインジケータとケミカルインジケータを指標として、7.5%の過酸化水素水では 30 分以上、30%の過酸化水素水では 15 分以上過酸化

水素蒸気に暴露することで除染効果が得られること。N95 または DS2 マスクへの残留過酸化水素は 48 時間の強制換気後に 1 ppm 以下となることが明らかになった。

8. 環境中の SARS-CoV-2 の生残性

環境中または物品に付着した SARS-CoV-2 への対策を検討するため、SARS-CoV-2 を様々な素材に接種してその生残性を経時的に評価した。ポリスチレン上にウイルス液を接種して乾燥させたものを 20°C・相対湿度 40% (春・秋季または標準的室内環境モデル) と 30°C・相対湿度 80% (夏季モデル) に放置して感染価の推移を評価すると、24 時間後に春・秋季モデルでは 1/10、夏季モデルでは 1/1,000 へ低下と温湿度条件により顕著な差違を認めた。

9. 文献調査

「感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き」の改訂に向けた情報収集は、令和 2 年 12 月に WHO 実験室バイオセーフティマニュアル(第 4 版)が改訂されたことが大きな情報であった。また、国内で入手可能な物資の検索では、クルーズ船ダイヤモンドプリンセス号の消毒で利用された AHP、有機物存在下において NaClO よりも消毒効果の減衰が小さい有機物等異物の影響を受けにくいとされる亜塩素酸水等が候補として見出された。

D. 考察

令和 2 年のアルコール製剤をはじめとする消毒薬の供給不足により、その代替として最も注目を集めた物資が次亜塩素酸水である。食品添加物として認可されている次

亜塩素酸水は電気分解により生成したものであるが、NaClO 液に希塩酸等を混合して生成したのも市中に流通した。その結果、一般家庭へ短期間に普及利用されることになり、NITE や大学等研究機関が SARS-CoV-2 の消毒効果について検証実験を行って公表した。しかし、実施機関毎に実験条件が異なるため、有効性の結果にばらつきがみられた。その原因として、次亜塩素酸水の有効塩素濃度はウイルス液と混合させる前に確認するのみで、ウイルス液と混合させた後の有効塩素濃度について確認しておらず、ウイルス液に有効塩素濃度を下げる物質の存在が疑われた。そこで、ウイルス液の溶媒である DMEM を生理食塩水へ置換して評価を行うと、有効塩素濃度 5 ppm であっても SARS-CoV-2 の感染価は検出限界未満になった。そのため、次亜塩素酸水や NaClO による SARS-CoV-2 の消毒では、公表されているよりも低濃度で十分な不活化効果が得られると考えられた。なお、SARS-CoV-2 は唾液に含まれており、感染者の唾液飛沫と共に排泄される。そこで、市販のプール唾液に SARS-CoV-2 をスパイクして NaClO 等の有効性を検証したが、唾液成分による影響は認められなかった。

SDIC は NaClO と同等以上の SARS-CoV-2 の不活性化効果を発揮することが確認された。SDIC の剤型は固形で要時調製が可能であり、液体である NaClO に比べて可搬性と保存性において遙かに優れている。そのため、SDIC は災害対策等の備蓄において最適な消毒用物資と考えられた。

評価した有機酸の内、クエン酸は純品が

家庭用洗浄剤として市販されているために入手が容易で、洗浄に用いられる濃度未満で SARS-CoV-2 を不活化できること、無臭であることから、一般人でも安全に取り扱うことができる SARS-CoV-2 の消毒剤として推奨できる物資と考えられる。

紫外線による殺ウイルス効果は、単波長の LED ランプが多波長の水銀ランプと同等であることが確認された。そして、LED ランプは水銀ランプに比べて寿命が長いことから、今後、紫外線光源は LED ランプへ置換されることが予想される。なお、対象微生物によって効果の高い波長が異なることが確認されたため、感受性を考慮した波長の選択と紫外線強度管理が必要と考えられる。

DLS 解析は溶液中における粒子の運動速度を計測し、そのデータから各種の数値計算を利用して大きさに換算するというものであり、消毒薬等によりウイルス粒子が破壊されることで粒径が変化し、その変化を捉えることで SARS-CoV-2 の不活化に有効な薬剤と処理条件を感染価測定に依らずに評価できると考えた。その期待通りに BZC と BZN は NITE が SARS-CoV-2 の不活化に有効とした濃度 0.05% 以上と近似する結果 (0.065% 以上) が SARS-CoV-2 と同じ β コロナウイルス属の MHV で得られた。また、口腔殺菌消毒剤の成分である QAC において、0.065% の DB は BZC、BZN と同等に有効であったが、CPC は 0.5% の高濃度でも反応 1 分でウイルス粒子すべてを破壊することはできなかった。DB がコロナウイルスに有効であることを示したのは本研究

が初めてであり、感染者や医療従事者が市販の DB トローチを摂取することで、感染拡大阻止、感染予防に寄与することが期待される。

QAC について、季節性インフルエンザウイルス (A/H1N1、A/H3N2 及び B) に対する不活化効果を感染価測定により検討した。十分な不活化効果が確認されたが、同一の薬剤・濃度であってもインフルエンザウイルスの型・亜型により有効性が異なり、特に A/H3N2 に対しては有効性が低くなる傾向がみられた。

空中に浮遊するインフルエンザウイルスとコロナウイルスは低濃度オゾンでは湿度依存的に、低濃度二酸化塩素では比較的高い湿度で湿度依存的に、低濃度次亜塩素酸ガスでは湿度非依存的に不活化できることが明らかになった。WHO や厚生労働省は空気中のウイルス対策として有人環境での消毒薬等の空間噴霧は推奨していないが、無人の空間で低濃度のオゾン、二酸化塩素、次亜塩素酸ガスにより空間消毒を行うことは積極的ウイルス対策として有効と考える。

過酸化水素蒸気による N95、DS2 マスクの消毒は、比較的簡単な構造のミスト発生装置により 7.5%の過酸化水素水を蒸気発生源とした場合には 30 分以上、30%の過酸化水素水を蒸気発生源とした場合には 15 分以上、蒸気に暴露することで除染効果が得られること、48 時間の強制換気後により残留過酸化水素は 1 ppm 以下になることが確認された。製作したミスト発生装置は小型のためにマスクのような小物の PPE の消毒に限定されるが、密閉容器を大型化す

ることで、つなぎ等の大物の PPE の消毒に応用可能と考える。

環境中の SARS-CoV-2 の生残性は、20°C 相対湿度 40%と比較して 30°C/相対湿度 80%中では 100 倍程度早く不活化された。そして、48 時間で感染性は検出限界になることが明らかとなった。温湿度条件と比較すると株間に明らかな差異はなかったが、TY8-612 はやや安定性が高いように思われた。

諸外国の消毒剤に関する公表内容は、有効性が期待される成分や市販製品を広くリスト化するなど、一般消費者にとって身近な、具体的な情報であった。COVID-19 に限っては NITE が有効性の期待される市販製品をリスト化して公表したが、「感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き」の改訂に当たっては、諸外国の記述事例、情報提供の形態を参考にすることで利用者の範囲が広がることを期待される。

E. 結論

本研究ではウイルスの不活化が粒子破壊による場合には DLS 解析が応用できること、NaClO をはじめとする塩素系消毒薬はウイルス液に含まれる培地成分、アミノ酸に影響を受けて有効性を過小評価していたこと、クエン酸が SARS-CoV-2 の消毒に用いる物資となること、DB が BZC、BZN と同等のコロナウイルスに対する有効性が確認され、DB トローチが飛沫感染の防除へ活用されることが期待されること、空気中のウイルスの不活化に用いるオゾン、二酸化塩素、および次亜塩素酸ガスの使用条件、

PPEの消毒に用いる過酸化水素ガスの条件、環境中の SARS-CoV-2 の生残性は夏季に48時間以内と短いこと等を明らかにした。これらの知見並びに文献等調査結果を基に、感染症法に基づく消毒・滅菌の手引きの改訂のための案を提案したい。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Shimoda H, Matsuda J, Iwasaki T, Hayasaka D*. Efficacy of 265-nm ultraviolet light in inactivating infectious SARS-CoV-2. *Journal of Photochem Photobiol.* 7: 100050, 2021.

Iki S, Sekiguchi K, Kurata Y, Shimizu E, Sugiura A, Yuasa H, Hanaki KI. Effects of various physical and chemical disinfection methods on the fine particle collection efficiency of N95 respirators and surgical masks. *Jpn J Infect Dis.* 2021. DOI: 10.7883/yoken.JJID.2021.663

Hasegawa G, Sakai W, Chiaki T, Tachibana S, Kakita A, Kato T, Nishimura H, Yamakage M. Investigation into the efficacy of a novel extubation-aerosol shield: a cough model study. *Infect Prev Pract.* 4:100193, 2022.

2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

発明の名称 ウイルス不活化装置並びにウイルス不活化装置付き空気処理装置 共同開発者 ダイニチ工業株式会社 出願日 R2.12.1 出願

発明の名称 空気殺菌・ウイルス不活化装置 共同開発者 株式会社 AiDeal Tech 出願日 R3.1.12 出願 R3.7.12 国際特許出願 R3.11.12 国際特許 19 条補正

発明の名称 オゾン検知システム及びオゾン発生器 共同開発者 日本特殊陶業株式会社 出願日 R3.5.3 出願

発明の名称 加湿システム、オゾン発生器、及び加湿方法 共同開発者 日本特殊陶業株式会社 出願日 R3.5.3 出願

発明の名称 評価システム、オゾン発生器、加湿器、電子看板システム、及び情報提供システム 共同開発者 日本特殊陶業株式会社 R3.5.31 出願

発明の名称 空気殺菌・ウイルス不活性化装置 共同開発者 株式会社 AiDeal Tech R3.5.31 出願【発明 2 関連の新規出願】

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
(分担) 研究年度終了報告書
動的光散乱法解析による候補物資の選抜に関する研究

研究代表者 花木 賢一 国立感染症研究所安全実験管理部長

動的光散乱法は溶液中のナノメートルサイズの微粒子を計測する技術で、マウスコロナウイルスをモデルウイルスとして新型コロナウイルスの消毒に有効な薬剤を0.3%ウシ血清アルブミン存在下で1分間反応させてスクリーニングを行った。そして、薬剤等の未処理条件の粒径に近い粒子の消失を以てウイルスは不活化された=有効と判定した。その結果、第四級アンモニウム塩では0.0625%以上の塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、及びドミフェンブロミドが有効であったが、0.5%塩化セチルピリジニウムは無効であった。また、0.425%加速化過酸化水素は有効であったが、1.5%過酸化水素水、0.5%直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウムは無効であった。

A. 研究目的

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) のパンデミックにより消毒薬の一般需要が急増し、2020 年はアルコール製剤をはじめとする消毒薬の供給不足が社会問題となった。その後、消毒薬として使用可能なアルコールの供給増加と独立行政法人製品評価技術基盤機構 (NITE) が新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) に対する代替消毒方法の有効性評価を実施し、家庭用洗剤に含まれる界面活性剤、次亜塩素酸水等の有効性を公表したことで消毒薬の供給不足という社会問題は一段落した。しかし、NITE の検証した物資は医療で常用される消毒薬と生体に用いる薬剤等は対象外としていた。そのため、未評価の薬剤等が多数残された。また、有効性評価は培養上清のウイルス力価測定またはウイルスゲノム量の増加の有無で判定しており、判定には3~5日要することから限定的な条件で評価が行われた。

動的光散乱法 (Dynamic Light Scattering:

DLS) は、溶液中のナノメートルサイズの微粒子を計測することができる実用的かつ品質マネジメントシステムに関する国際規格 ISO 22412:2017 に記載された簡便な手法である。その原理は、溶液中における粒子の運動速度を計測し、そのデータから各種の数値計算を利用して大きさに換算するというものである。そのため、ウイルスの形態を変化させることでウイルスを不活化させる物資であれば、DLS 解析により物資のスクリーニングが可能と考えられる。そこで、本研究では DLS 解析によるコロナウイルスの粒径測定条件の決定、コロナウイルスの形態変化を引き起こすことが期待される第四級アンモニウム塩 (QAC) のスクリーニング、合わせてダイヤモンドプリンセス号の消毒に用いられた加速化過酸化水素 (APH) とその主たる構成成分である過酸化水素を対象とした。

B. 研究方法

① 候補物資

QAC として塩化ベンザルコニウム (Benzalkonium Chloride, BZC; Sigma-Aldrich)、塩化ベンゼトニウム (Benzethonium Chloride, BZN; 富士フィルム和光純薬)、ヘキサデシルトリメチルアンモニウム・クロリド [別名: 塩化セチルピリジニウム; Cetylpyridinium chloride, CPC; 富士フィルム和光純薬]、ドミフェンブロミド (Domiphen bromide, DB; Sigma-Aldrich) の4種を用いた。また、衣料用合成洗剤に含まれる界面活性剤として直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (Sodium linear-Alkylbenzenesulfonate, SLA; 富士フィルム和光純薬)、加速化過酸化水素 (AHP) として4.25%のAHPを含有するオキシヴィルファイブ (シーバイエス)、過酸化水素 (Hydrogen Peroxide Solution, HP) として約3w/v%のHPを含有する日本薬局方オキシドール (健栄製薬) を用いた。界面活性剤は精製水に溶解して希釈列を調製し、AHPとHPはウイルス液への添加容量を変えることで終濃度を調整した。

② ウイルス

マウスコロナウイルス (Mouse Hepatitis Virus, MHV) はJHM, F-2D, NuA, Sの4株を用いた。ウイルス培養にはDBT細胞を用い、細胞はウイルス接種後にウシ胎子血清及び Tryptose Phosphate Broth (TPB, Difco) を含まないEMEMで37°C, 5%CO₂下で二晩培養した。培養上清は1,500 ×g, 5分間の遠心により細胞残渣を除去し、0.22

μm 遠心式フィルターユニット (Ultrafree-MC, Millipore) でろ過して-80°Cに保存した。感染価はウイルス液の10倍希釈系列を作製して96ウェルプレートに播種したDBT細胞へ接種し、TCID₅₀を求めた。

③ DLS 解析

DLS 解析は粒子径・ゼータ電位測定装置 Zetasizer Ultra (Malvern) により実施した。試料合計1mlを12mm角ポリスチレンセルに入れてストッパーで密封し、セルホルダーにセットした後に多角度動的光散乱法により測定した。候補物資のスクリーニングでは、セルに0.9mlの0.3%BSA加ウイルス液 (ウイルス液:3%BSA:PBS=0.05ml:0.1ml:0.75ml) を入れ、DLS解析を行う直前に0.1mlの候補物資溶液を加えて軽くピペッティングし、1分間静置した後に測定を行った。

C. 研究結果

① ウイルス及び溶媒の選定

MHV-JHM, MHV-F-2D, MHV-NuA, MHV-SそれぞれをPBSで1:19に希釈してDLS解析を行った結果、粒径分布に差がみられた。比較的均一であったのはMHV-F-2Dで、希釈前のMHV-F-2D溶液の感染価は 6.2×10^6 TCID₅₀/mlであった。なお、DBT細胞でMHVを培養する場合には無血清・10%TPB加EMEMを用いるが、TPB加EMEMでは非特異的な粒径のピークが認められたことから、EMEMのみでMHVの培養を行った [データ未収載]。次に、溶媒の検討をPBSと精製水(DW)について行った [図1]。

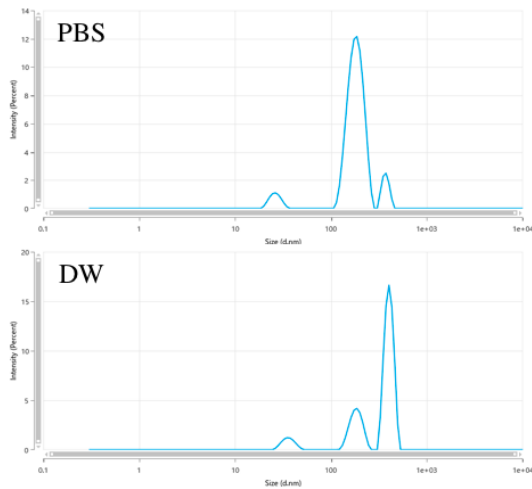


図1 PBSまたは精製水におけるMHVの粒径分布
 PBSでは主たるピーク(86.0%)の粒径は ϕ 182.1nmであったが、DWでは主たるピーク(69.5%)は ϕ 402.6nmであった。MHVの粒径は ϕ 80-169nmとされており(Homberger, F.R. 1997. Lab Anim. 31:97-115)、その粒径に近似するPBSを溶媒として選択した。

次に、ウイルス液に負荷物質として0.3% BSA存在下、2倍希釈列のBZNを添加して室温1分間後、DLS解析を行った[図2]。0.3% BSAは「環境消毒薬の評価指針2020」(一般社団法人日本環境感染学会)に記載された清浄条件の10倍濃度である。それぞれの主たるピークはBZNが0.5%の時 ϕ 1,237nm(69.0%)かつ ϕ 80~200nmにはピークを認めず(最小粒径のピークは ϕ 425.3nm)、0.25%の時 ϕ 1,100nm(91.8%)かつ ϕ 80~200nmにはピークを認めず(最小粒径のピークは ϕ 752.4nm)、0.125%の時 ϕ 1,121nm(77.5%)かつ ϕ 80~200nmにはピークを認めず(最小粒径のピークは ϕ 748.6nm)、0.0625%の時 ϕ 1,064nm

(39.4%)かつ ϕ 80~200nmにはピークを認めず(最小粒径のピークは ϕ 423.5nm)、

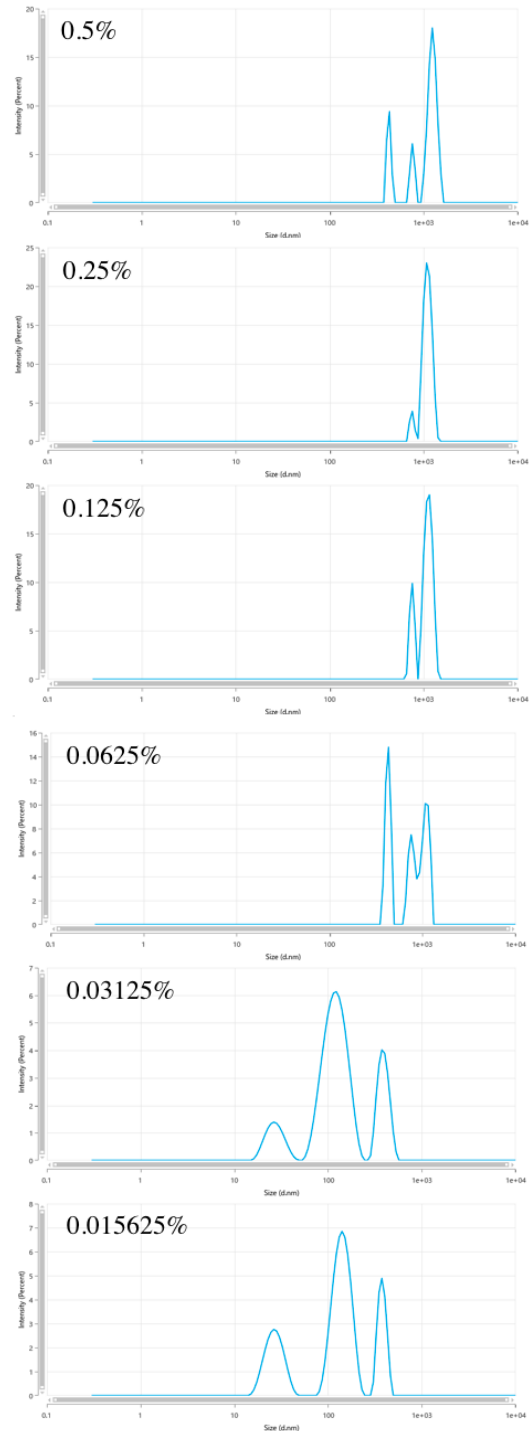


図2 BZN処理によるMHVの粒径分布

0.03125%の時 $\phi 121.9\text{nm}$ (67.0%) と $\phi 80\sim 200\text{nm}$ にピークを認め、0.015625%の時 $\phi 142.0\text{nm}$ (56.7%) と $\phi 80\sim 200\text{nm}$ にピークを認めた。この結果より 0.0625%以上の BZN でウイルス粒子は完全に破壊され、0.03125%以下ではウイルス粒子は形態を保持すると考えられた。

BZC についても同様の解析を行い、0.0625%の時に主たるピークは $\phi 774.6\text{nm}$ (52.8%) かつ $\phi 80\sim 200\text{nm}$ にはピークを認めず (最小粒径のピークは $\phi 425.8\text{nm}$)、0.03125%の時に主たるピークは $\phi 116.7\text{nm}$ (35.2%) と $\phi 80\sim 200\text{nm}$ にピークを認めた [図 3]。この結果より BZC もまた 0.0625%以上の濃度でウイルス粒子は完全に破壊され、0.03125%以下ではウイルス粒子は形態を保持すると考えられた。

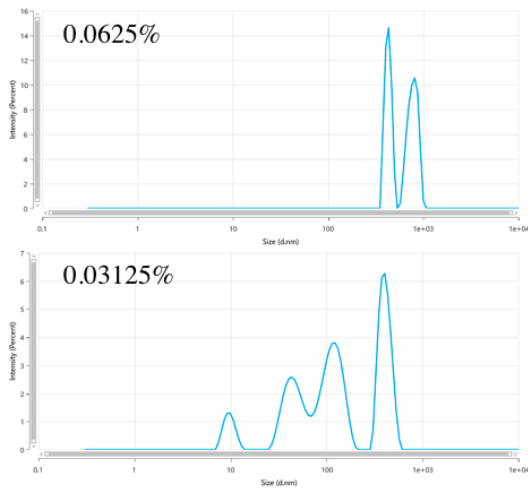


図 3 BZC 処理による MHV の粒径分布

DB についても同様の解析を行い、0.0625%の時に主たるピークは $\phi 1,115\text{nm}$ (49.5%) かつ $\phi 80\sim 200\text{nm}$ にはピークを認めず (最小粒径のピークは $\phi 430.6\text{nm}$)、0.03125%の時に主たるピークは $\phi 185.7\text{nm}$ (98.7%)

と $\phi 80\sim 200\text{nm}$ にピークを認めた [図 4]。この結果より DB も BZN、BZC と同様に 0.0625%以上の濃度でウイルス粒子は破壊され、0.03125%以下ではウイルス粒子は形態を保持すると考えられた。

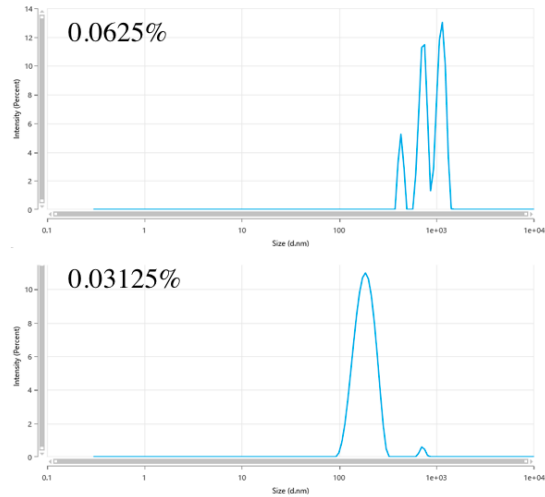


図 4 DB 処理による MHV の粒径分布

一方、CPC [図 5] と SLA [図 6] では 0.5%でも $\phi 80\sim 200\text{nm}$ にピークを認めた。

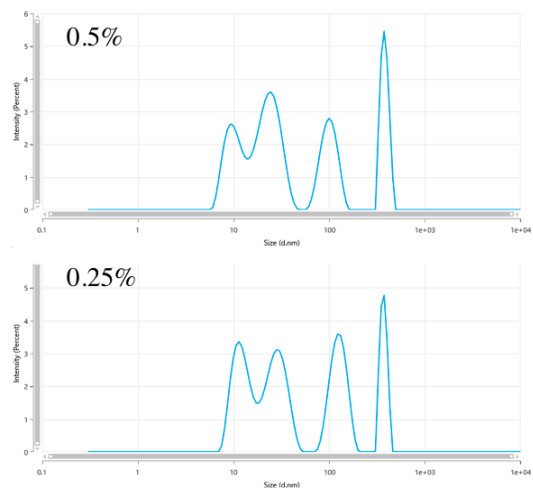


図 5 CPC 処理による MHV の粒径分布

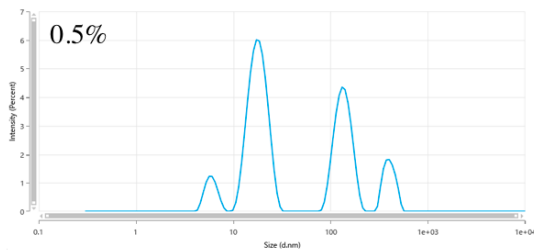


図6 SLA 処理による MHV の粒径分布

AHP は DW で希釈するのみで発泡するため、それにより効力が失われると推定し、ウイルス液と AHP の混合比を変えて評価を行った (1/10 AHP, ウイルス液 : AHP=9 : 1 ; 1/20 AHP, ウイルス液 : AHP=19 : 1 ; 1/40 AHP, ウイルス液 : AHP=39 : 1)。DLS 解析結果を図 7 に示す。

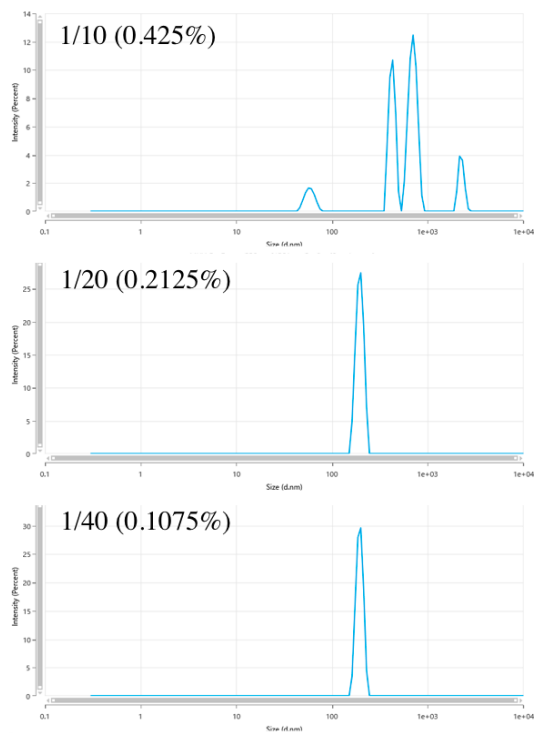


図7 AHP 処理による MHV の粒径分布

1/10 AHP の時に主たるピークは $\phi 699.8\text{nm}$ (48.9%) かつ $\phi 80\sim 200\text{nm}$ にはピークを認めず (80nm 以上の最小粒径

のピークは $\phi 424\text{nm}$; 80nm 未満で認める粒径のピークは $\phi 60.8\text{nm}$)、1/20 および 1/40 AHP の時に認める単一のピークはそれぞれ 195nm (100%)、194.4nm (100%) で、いずれも $\phi 80\sim 200\text{nm}$ にピークを認めた。このことから AHP は 1/10 までの処理ではウイルス粒子を破壊し、1/20 以下ではウイルス粒子は保持されたと考えられた。なお、約 1.5% 過酸化水素は主たるピークは $\phi 136.3\text{nm}$ (90.0%) と $\phi 80\sim 200\text{nm}$ にピークを認め、一部 (10%) の粒子が破壊されていると推察される結果であった[図 8]。

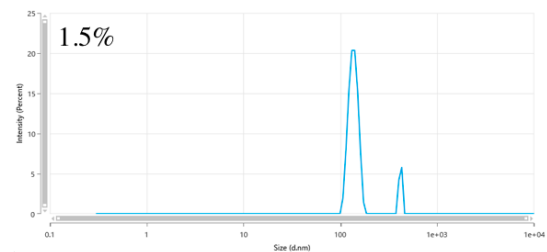


図8 過酸化水素処理による MHV の粒径分布

D. 考察

SARS-CoV-2 をはじめとするエンベロープウイルスは消毒薬等により容易に不活化できる微生物であり、界面活性剤が有効である。そして、QAC は米国環境保護庁が COVID-19 に有効として公表している消毒剤製品リスト N において、573 品目中 257 品目 (44.9%、2021 年 9 月現在) を占めることから取り上げた。また、日本では医薬品指定を受けていないが、AHP は米国 CDC が公表している「医療施設における消毒と滅菌のための CDC ガイドライン 2008」に収載されていることから雑品として取り上げた。

QAC は有機物存在下で効果が減弱する可能性が指摘されていることから(WHO 実験室バイオセーフティマニュアル第 4 版、付属書「除染と廃棄物管理」)、0.3% BSA を負荷して評価を行った。その結果、BZC と BZN は 0.0625% で有効、0.03125% で無効であった。この結果は NITE が公表した SARS-CoV-2 を不活化する有効濃度が 0.05% 以上であったとする報告によく近似していた。また、DB は口腔殺菌消毒剤(ドミフェン臭化物トローチ)として用いられているが、BZC、BZN と同様に 0.0625% で有効、0.03125% で無効であった。一方、CPC もまた口腔殺菌消毒剤(セチルピリジニウム塩化物トローチ)であるが、0.5% でもウイルス粒子を破壊するには不十分であった。なお、CPC の SARS-CoV-2 への有効性は購入元の富士フィルム和光純薬が 0.05% CPC 水溶液とウイルス液の混合比 1 : 9 で 15 秒作用させることで 99%、5 分作用させることで 99.99% 不活化できたと公表している (https://specchem-wako.fujifilm.com/jp/cpc/#disinfection_date)。この差違は有機物の負荷を行っているか否かに起因していると思われた。SLA については、NITE は 0.1% 以上で SARS-CoV-2 へ有効と公表したが、DLS 解析では 0.5% でも MHV を破壊できなかった。結果が異なる理由として、NITE の検証で用いられた SLA は日本石鹼洗剤工業会より提供を受けた実際の洗剤製品の原料であるのに対し、本研究で用いたのは試薬であるために同一品でない(C の数が異なる)可能性が考えられた。

AHP ではウイルス液に 1/10 容の AHP 原

液を加えた場合にのみ有効性が確認された。AHP は原液で使用する製剤であることから、実際の使用方法では終濃度が 10 倍に希釈されることはなく、十分な効果が発揮され则认为。一方、過酸化水素は約 1.5% でもウイルス粒子を破壊することができなかった。これは過酸化水素の作用時間が 1 分、測定時間を含めて 3 分と短く効果が発揮できなかったことが考えられる。なお、AHP には界面活性剤が含まれており、界面活性剤と過酸化水素との相乗効果によりウイルス粒子を破壊したと考えられるが、過酸化水素単独処理によりウイルス粒子を十分に破壊できるかは検討が必要である。

E. 結論

本研究では DLS 解析によりコロナウイルスをはじめとするエンベロープウイルスを不活化する界面活性剤のスクリーニングへ応用できることを明らかにした。特に、口腔殺菌消毒剤として使用される DB と CPC に有効性の顕著な差があることを明らかにしたことは、新しい知見である。DLS 解析は形態変化を伴うウイルス不活化の条件検討に有用であり、今後はどのような消毒、滅菌方法のスクリーニングへ応用を展開できるか検討していく必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
(分担) 研究年度終了報告書

薬剤による新型コロナウイルス不活化条件に関する研究

研究分担者 森川 茂 岡山理科大学・獣医学部・教授

研究要旨

ウイルス液を Sephadex G25 カラムによる限外ろ過法で DMEM から生理食塩水に置換して、次亜塩素酸水による不活化度を検討した。その結果、培地成分を置換しないウイルスを用いた試験では、20ppm 以下では不活化度が低く、50ppm 以上で検出限界未満になった。一方、生理食塩水で置換したウイルス液を用いて同様に不活化度を検討した結果、5ppm でも検出限界未満になった。

エンベロープウイルスの不活化効果の高い SDS による不活化を、FBS を含まない DMEM 培地で調製した SARS-CoV-2 を用いて調べた。その結果、0.01% SDS では 25℃、3 分間の処理では不活化効果は 50% 程度、0.1% SDS では 99.2%、1% SDS では 99.9% であった。1% SDS 処理では 100℃、10 分間の処理では検出限界未満まで不活化されるという報告があるが、25℃、3 分間の処理ではかなり不活化されるが完全には不活化できなかった。

血清の非働化では 56℃、30 分間の熱処理がされる。この熱処理での不活化と血清濃度との関係を調べた結果、FBS を 1%、90% 含む DMEM 中の SARS-CoV-2 のいずれも 10 分間処理で 99.8~99.9%、30 分間処理ではほぼ検出限界まで不活化されたことから、非働化により感染リスクはほとんどなくなると考えられた。

A. 研究目的

令和 2 年 1 月末に WHO が国際緊急事態宣言を出した新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は、わが国では同年 2 月に「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律 (感染症法)」の指定感染症に指定され、現在も全国で新規感染者の報告が続いている。感染症の伝播抑制には、病原体で汚染された器機、環境の消毒・滅菌を適切かつ迅速に行う必要がある。感染症法第 27 条及び第 29 条に基づく病原体に汚染された場所等の消毒・滅菌は、平成 30 年 12 月 27 日付で改訂された「感染症法に基

づく消毒・滅菌の手引き」によって行われ、COVID-19 へは SARS・MERS の記載が準用されている。しかし、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) は他のウイルスと不活化条件の異なる例が報告されている。

COVID-19 の流行は消毒薬需要の急増を招き、消毒薬の供給不足は社会問題となった。独立行政法人製品評価技術基盤機構 (NITE) は、経済産業省の依頼により消毒薬の不足に対処するため、専門家による検討委員会を設置して SARS-CoV-2 に汚染された物の消毒に有効な物資を選定して公表した。同様の物資の公表は海外でも行われ

ている。ただし、NITE は評価対象物資から医療機関で通常使用されている物資を除外したため、未検証の物資が多く残されている。また、市中には SARS-CoV-2 の消毒効果を検証することなく、その有効性を謳う物資が出回っている。そこで、本研究は令和 2 年度中に、①SARS-CoV-2 に対する一般的な消毒・滅菌方法の条件を実験的に明らかにすること。②マスクや防護服といった个人防护具の再利用に資する新たな消毒方法を確立すること。そして、それらを基に③SARS-CoV-2 の消毒・滅菌の手引きを作成することを目的とする。併せて、④COVID-19 パンデミックによる消毒薬の供給不足を省み、他の感染症についても「感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き」に記載されていない消毒・滅菌方法の追加が必要であり、主に文献調査を行って手引きを改訂することを目的とする。それらの内、本研究では SARS-CoV-2 の各種消毒剤等の成分による不活化条件を検討してその有効性を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

1) ウイルス溶液中に含まれる細胞培養用培地成分による次亜塩素酸 Na 溶液や次亜塩素酸水中の遊離残留塩素の低下：

厚生労働省の「新型コロナウイルスに関する Q&A (一般の方向け)」では、使用方法として、「市販の家庭用漂白剤を、次亜塩素酸ナトリウムの濃度が 0.05% になるように薄めて拭きます。その後、水拭きしましょう。」と記載されている。0.05% は 500ppm であるが、市販の次亜塩素酸 Na を含む漂白剤などの使用推奨濃度に相当する。ウイルスは通常、細胞培養用の培地に非働化ウ

シ胎児血清 (FBS) や抗生物質を添加した液中に含まれる形態で使用される。本研究では、細胞培養用培地成分が次亜塩素酸ナトリウム液の遊離残留塩素に影響するかを検証した。また、NITE で取りまとめた次亜塩素酸水による SARS-CoV-2 に不活化効果は、複数の研究機関で実施された結果をとりまとめて 99.9% 以上の不活化効果がある 35ppm 以上を有効濃度と判断している。この 35ppm は理論値であり、残留塩素濃度を測定しているわけではない。この試験では、ウイルスは培地に FBS を 1% から 5% 含む液に含まれているものを用いている。そこで、培地成分が次亜塩素酸水の有効塩素濃度に与える影響を調べた。培地をそのままあるいは蒸留水で希釈して 1,000ppm の次亜塩素酸ナトリウム 1/100 と混合して、遊離残留塩素濃度を測定した。また、分子量 5,000 以下の低分子物質を除去できる Sephadex-G25 の市販カラムである PD-10 脱塩カラムまたは PD MidiTrap G-25 カラムを用いて、DMEM 培地あるいは 1% FBS を添加した DMEM 培地の低分子物質を除去して生理食塩水 (0.9% NaCl) に置換した。これらに次亜塩素酸 Na や次亜塩素酸水を添加して遊離残留塩素を測定した。

2) 培地の低分子物質を除去した SARS-CoV-2 の不活化に要する次亜塩素酸 Na や次亜塩素酸水の濃度：

1) で用いた PD-10 脱塩カラムまたは PD MidiTrap G-25 カラムを用いて、分子量 5,000 以下の低分子物を除去して生理食塩水に置換したウイルス液を作製し、不活化に要する次亜塩素酸 Na や次亜塩素酸水の濃度を調べた。通常の培地に含まれるウイルスまたは低分子物を除去したウイルスの 1 容に、各種濃度の

次亜塩素酸 Na や次亜塩素酸水の 19 容を混合して、室温で 1 分間反応させた。反応後直ちにチオ硫酸 Na で中和して 1%FBS 添加 DMEM 培地で 10 倍階段希釈し、VeroE6/TMPRSS2 細胞を培養したマイクロプレートに各希釈ウイルス液 40 μ L/well x 6 wells/dilution 接種して 4 日後に CPE の出現を指標にウイルス力価 (TCID₅₀/mL) を Reed & Muench 法で求め、mock 反応対象に対する力価の減少により不活化効果を求めた。

3) SDS による不活化効果:

比較的ウイルス不活化効果の強い界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム (SDS) による不活化効果を調べた。FBS 無添加 DMEM 培地で調製した SARS-CoV-2 液に SDS を 0.01、0.1、1% になるように添加して室温 25°C で 3 分間処理後、JIS L1922 に準じて不活化度を解析した。

4) 熱不活化と FBS 濃度:

SARS-CoV-2 は、ウイルス血症をほとんど起こさないとされるが 1% 程度の感染者の血中にウイルスが検出される。そこで、通常の 1% FBS 添加 DMEM 中のウイルスと 90% FBS 添加 DMEM 中のウイルスで 56°C での不活化を比較した。

(倫理面への配慮)

特記事項なし

C. 研究結果

1) ウイルス溶液中に含まれる細胞培養用培地成分による次亜塩素酸 Na 溶液や次亜塩素酸水中の遊離残留塩素の低下:

SARS-CoV-2 の増殖に使用する DMEM 培地を 20mL と 1,000ppm の次亜塩素酸ナトリウム 0.2mL を混合すると理論値は

9.90ppm となるが、残留遊離塩素濃度の実測値は測定限界未満であった。そこで、DMEM 培地を蒸留水で 100 倍希釈したものの 20mL と 1,000ppm の次亜塩素酸ナトリウム 0.2mL を混合すると有効塩素濃度の実測値は 0.14ppm と理論値の 9.90ppm の 1/70 の値となった。次亜塩素酸水を用いて同様の試験を行うと同様の結果が得られた。また、PD-10 脱塩カラムで DMEM を生理食塩水に置換したものでは、同様に試験で実測値は理論値の約 1/2 となった。このことは、DMEM 培地中に大量に含まれるアミノ酸と有効塩素が反応して塩素が消費されるためと考えられた。

2) 培地の低分子物質を除去した SARS-CoV-2 の不活化に要する次亜塩素酸 Na や次亜塩素酸水の濃度:FBS を含まない DMEM 培地で調製したウイルス、1%FBS 添加 DMEM 培地で調製したウイルス、脱塩カラムで DMEM を生理食塩水に置換したウイルスで次亜塩素酸 Na や次亜塩素酸水による不活化効果を調べた結果、FBS を含まない DMEM 培地で調製したウイルス、1%FBS 添加 DMEM 培地で調製したウイルスでは優位差はなく、理論値 20ppm では不活化度が低く、理論値 50ppm 以上で検出限界未満 (log₁₀ 値で >5.3 の力価減少) まで不活化され、NITE の報告と一致した。一方、FBS を含まない DMEM で調製したウイルス液を 100 倍希釈して、次亜塩素酸ナトリウムの実測値でのウイルス不活化度を検証した結果、ネココロナウイルスでは、実測値の残留遊離塩素濃度 0.14ppm で 5 分間以上の処理で検出限界未満に、0.25ppm 以上では 1 分間以上で検出限界未満まで不活化できた。一方、SARS-CoV-2 では、実測値の残留遊離塩素濃度 0.25ppm の 1 分間処理では

log₁₀ 値で 3.6 の力価減少、20 分間で検出限界未満(>4.1)まで不活化された。

また、ウイルス液を Sephadex G25 カラムにより DMEM から生理食塩水に置換したウイルスを用い、NITE で報告されたウイルス液:次亜塩素酸水=1:19, 1 分間処理で不活化試験を行うと、5ppm でも検出限界未満(log₁₀ 値で>5.3 の力価減少)であった。SARS-CoV-2 は唾液や痰などからの飛沫が主な感染源となるが、これらにはタンパク質やアミノ酸はあまり含まれていないため、これらによる汚染部位の SARS-CoV-2 の不活化は、比較的低濃度の次亜塩素酸 Na で可能であると考えられた。

3) SDS による不活化効果:

界面活性剤によるウイルスの不活化は、ウイルスが含まれる液中のタンパク質濃度が影響することがわかっている。タンパク質濃度が高いと界面活性剤が消費されるからである。そこで、特にエンベロープウイルスの不活化効果の高い SDS による不活化を FBS を含まない DMEM 培地で調製した SARS-CoV-2 を用いて調べた。その結果、0.01%SDS では 25℃、3 分間の処理では不活化効果は50%程度で有効ではなかった。0.1%SDS では、99.2% (log₁₀ 値で 2.1 の力価減少)、1%SDS では、99.9% (log₁₀ 値で 2.9 の力価減少)であった。1%SDS 処理では 100℃、10 分間の処理では検出限界未満まで不活化されるという報告があるが、25℃、3 分間の処理ではかなり不活化されるが完全には不活化できなかった。

4) 熱不活化と FBS 濃度:

FBS を 1%、90% 含む DMEM 中の SARS-CoV-2 の 56℃による熱不活化を比較検討した結果、いずれも 10 分間処理で 99.8~99.9% (log₁₀ 値で 3 の力価減少)、30 分間

処理ではほぼ検出限界(log₁₀ 値で 4 桁以上の力価減少)まで不活化された。

D. 考察

汚染箇所の不活化によく用いられる次亜塩素酸 Na や次亜塩素酸水による不活化の報告では、通常ウイルス液を用いて行われているが、本研究で培地中に含まれるアミノ酸などの低分子物が残留有利塩素を著しく減少させることがわかった SARS-CoV-2 では感染源は主に感染者からの飛沫に含まれるウイルスであることから、飛沫中にはアミノ酸などはあまり含まれていないことから、これまでの報告より実際には家内低濃度でも不活化されることがわかった。不活化試験は実際の感染源となる状況に近い状態での評価が必要であると考えられた。また、タンパク質をほとんど含まないウイルス液の SDS による不活化も室温で短時間では完全には不活化できなかった。一方、血清の非働化には 56℃、30 分間の熱処理が用いられるが、ウイルスによっては血清タンパク質濃度により熱不活化度が異なる場合がある。SARS-CoV-2 は感染者の 1%程しか血清中に検出されないが、血清の熱不活化では血清タンパク質濃度にかかわらず、56℃、30 分間の非働化でほぼ検出限界あるいは検出限界未満まで不活化されたことから、非働化された血清は感染源にはならないと考えられた。

E. 結論

各種不活化法とそれに影響する因子を明らかにした。これらは、汚染除去や感染防御に有用な情報である。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
(分担) 研究年度終了報告書

インフルエンザウイルス、229E, OC43 ヒト・コロナウイルスの不活化条件の検討

研究分担者 西村秀一 国立病院機構仙台医療センター臨床研究部ウイルス疾患研究室長

研究要旨：インフルエンザウイルス、ヒト・コロナウイルス 229E、ヒト・コロナウイルス OC43 を実験対象として空間や環境表面を想定した人工環境下で UV 照射やオゾンガスや二酸化塩素ガス、次亜塩素酸ガスや環境の温度や湿度による不活化条件を検討した。これらのウイルスは、SARS-CoV-2 に性質の似たエンベロープ RNA ウイルスであり、SARS-CoV-2 の代用として BSL2 レベルで使用可能なウイルスである。すでに当研究室で立ち上がっているインフルエンザウイルスの系ならびにコロナウイルス 229E の系で実験をスタートさせ、さらに同じβコロナウイルスに属するコロナウイルス OC43 を高濃度に培養し、感染価を測定する系を作りあげ、それを実験系に追加した。

各種波長をもつ紫外線を、環境表面に塗布したウイルスに照射し、ウイルスの失活を調べた結果、深紫外線領域の光源の中で、従来効果が高いと言われている 254nm よりも 275nm に有意に高いウイルス失活効果があることを OC43 で確認した。さらにコストの低い蛍光管式の波長 254nm の 30W の UV ランプでも空気流調整を組み合わせることで、低湿度環境下であっても空間に浮遊させたコロナウイルス OC43 を短時間で失活しうることを確認した。

空中浮遊インフルエンザウイルスの活性維持に湿度依存性があることを確認した後に 229E ならびに OC43 ウイルスも同様の性質を持つことを見出した。また空中浮遊 OC43 ウイルスの活性がインフルエンザウイルス同様、低濃度オゾンで低下すること、さらにそれには湿度依存性があることを見出した。また、低濃度二酸化塩素についても空中浮遊ウイルスに対して比較的高い湿度が必要であるという湿度依存性のもとで不活化効果を持つことを確認した。一方、低濃度次亜塩素酸ガスについても空中浮遊ウイルスに対する失活効果を認めたが、それには湿度依存性がないことを見出した。

A. 研究目的

令和 2 年 1 月末に WHO が国際緊急事態宣言を出した新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は、わが国では同年 2 月に「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律 (感染症法)」の指定感染

症に指定され、現在も全国で新規感染者の報告が続いている。感染症の伝播抑制には、病原体で汚染された器機、環境の消毒・滅菌を適切かつ迅速に行う必要がある。感染症法第 27 条及び第 29 条に基づく病原体に汚染された場所等の消毒・滅菌は、平成 30 年

12月27日付で改訂された「感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き」によって行われ、

COVID-19へはSARS・MERSの記載が準用されている。しかし、新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)は他のウイルスと不活化条件の異なる例が報告されている。

COVID-19の流行は消毒薬需要の急増を招き、消毒薬の供給不足は社会問題となった。独立行政法人製品評価技術基盤機構(NITE)は、経済産業省の依頼により消毒薬の不足に対処するため、専門家による検討委員会を設置してSARS-CoV-2に汚染された物の消毒に有効な物資を選定して公表した。同様の物資の公表は海外でも行われている。ただし、NITEは評価対象物資から医療機関で通常使用されている物資を除外したため、未検証の物資が多く残されている。また、市中にはSARS-CoV-2の消毒効果を検証することなく、その有効性を謳う物資が出回っている。そこで、本研究は①SARS-CoV-2に対する一般的な消毒・滅菌方法の条件を実験的に明らかにすること。②マスクや防護服といった个人防护具の再利用に資する新たな消毒方法を確立すること。そして、それらを基に③SARS-CoV-2の消毒・滅菌の手引きを作成することを目的とする。

本研究には研究分担者として参加しSARS-CoV-2のサロゲートウイルスとしてインフルエンザウイルス、ヒト・コロナウイルス229E、ヒト・コロナウイルスOC43を実験対象として空間や環境表面を想定した人工環境下でUV照射やオゾンガスや二酸化塩素ガス、次亜塩素酸ガスや環境の温度や湿度による不活化条件を検討した。

B. 研究方法

1. 半導体深紫外線LEDの発する波長222nm、254nm、275nmの3種類の深紫外線領域の光源を、固体表面上に塗布したコロナウイルスOC43へ一定時間照射した後、塗布ウイルスを培養液で洗い出しそのウイルス活性を測定することで、波長の違いによる不活化効果の程度を比較した。

2. 25m³の密閉空間中に低濃度の二酸化塩素ガス、オゾンガスならびに次亜塩素酸ガスを発生させ、その中に環境表面にウイルスを塗布したものを置き、さらにネブライザーでウイルスのエアロゾルを発生させ一定時間経過後、空中浮遊ウイルスをゼラチン膜フィルター上に回収し、環境表面並びに空中から回収されたウイルスの活性を定量し、同空間内での不活化効果の検証を行った。また、その際、空間の湿度と温度を振ることで、これらの介入における空間の湿度・温度の影響を調べた。

(倫理面への配慮)

特記事項なし

C. 研究結果

1. 3種類の深紫外線領域の波長の中で、従来効果が高いと言われている254nmよりも有意に高いウイルス不活化効果が275nmにあることを確認した。

2. ウイルスの不活化に高価なLEDを大量に用いることなく空中のウイルスを不活化する工夫をした結果、コストの低い蛍光管式の波長254nmの30WのUVランプでも空気流調整を組み合わせることで、空間に浮遊させたコロナウイルスOC43を短時間で効果的に失活させることを確認した。

3. 空中浮遊インフルエンザウイルスの活性維持に湿度依存性があることを確認した

後に 229E ならびに OC43 ウイルスも同様の性質を持つことを見出した。

4. また空中浮遊 OC43 ウイルスの活性がインフルエンザウイルス同様、低濃度オゾンで低下すること、さらにそれには比較的高い湿度が必要であるという湿度依存性があることを見出した。

5. 低濃度二酸化塩素についても空中浮遊ウイルスに対して湿度依存性に不活化効果を持つことを確認した。

6. 一方、低濃度次亜塩素酸ガスについても空中浮遊ウイルスに対する失活効果を認めしたが、それには湿度依存性がないことを見出した。

D. 考察

本研究により得、一般に空間除菌と称され、商業ベースあるいは企業宣伝ベースで宣伝される UV 光照射や低濃度のオゾンガスや二酸化塩素ガス、次亜塩素酸ガスが、環境表面付着ウイルスや空中浮遊ウイルスに対して実際に失活効果をもたらすためには、環境の温度や湿度とその環境下における濃度の維持が大事であることがわかった。

単に「使った、ウイルスの不活化があった」というだけの情報に踊らされることなく、それらの評価においては、その濃度維持や環境等の使用条件の違いに注意が必要である。

E. 結論

各種不活化法とそれに影響する因子を明らかにした。これらは、汚染除去や感染防御に有用な情報である。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1) Hasegawa G, Sakai W, Chiaki T, Tachibana S, Kakita A, Kato T, Nishimura H, Yamakage M. Investigation into the efficacy of a novel extubation-aerosol shield: a cough model study. Infect Prev. Pract. 2022. 4(1):100193, 2022.

(2) Fan Y, Nishimura H et al., Low possibility of influenza virus transmission via fomites: Laboratory and field studies of respiratory masks and environmental surfaces. (in submission)

2. 学会発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 発明の名称 ウイルス不活化装置並びにウイルス不活化装置付き空気処理装置
共同開発者 ダイニチ工業株式会社 出願日 R2.12.1 出願

2. 発明の名称 空気殺菌・ウイルス不活化装置
共同開発者 株式会社 AiDeal Tech 出願日 R3.1.12 出願 R3.7.12 国際特許出願 R3.11.12 国際特許 19 条補正

3. 発明の名称 オゾン検知システム及びオゾン発生器 共同開発者 日本特殊陶業株式会社 出願日 R3.5.3 出願

4. 発明の名称 加湿システム、オゾン発生器、及び加湿方法 共同開発者 日本特殊陶業株式会社
出願日 R3.5.3 出願

5. 発明の名称 評価システム、オゾン発生器、加湿器、電子看板システム、及び情報提供システム 共同開発者 日本特殊陶業株式会社 R3.5.31 出願

6. 発明の名称 空気殺菌・ウイルス不活性化装置共同開発者 株式会社 AiDeal Tech R3.5.31 出願【発明 2 関連の新規出願】

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
(分担) 研究年度終了報告書

各種ウイルスに対する不活化効果検証法の確立に関する研究

研究分担者 早坂大輔 国立大学法人山口大学共同獣医学部・教授

研究要旨

本研究では、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) に対する 265nm 深紫外 LED ランプ、石鹼、漆喰シート、各種弱酸 (酢酸、クエン酸、シュウ酸) による不活化効果の検証を行った。その結果、LED ランプを用いた 265nm 深紫外照射は 254nm 水銀ランプと同程度の不活化効果を示すこと、市販石鹼は 1%濃度 1 分後でも不活化効果がみられること、漆喰成分を含むシート製品に接触 10 分間で検出限界以下まで不活化効果がみられること、pH2 および pH4 の酢酸水溶液および pH2 のクエン酸水溶液で検出限界以下まで不活化効果がみられることが示され、それぞれの条件による不活化条件が示された。

A. 研究目的

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) をはじめとする数種の病原性ウイルスについて、「感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き」に収載されていない消毒・滅菌方法の追加に必要な情報を得ることを目的とし、新型コロナウイルスに対する不活化効果検証法の確立と条件に応じた不活化効果検証を行った。

B. 研究方法

1. 新型コロナウイルスに対する紫外線の不活化効果検証

SARS-CoV-2(2019-nCoV/Japan/AI/I-004/2020)ウイルス液 10ml を準備し、LED ランプ (265nm、280nm) および紫外線水銀ランプ (254nm) を用いて、紫外線を一定時間間隔で照射後、VeroE6/TMPRSS2 細胞を用いたプラーク法によりウイルスタイトを測定した。

2. 新型コロナウイルスに対する石鹼の不活化効果検証

濃度を段階的に希釈した市販石鹼サンプル (牛乳石鹼社製ミルキイボディソープ) と SARS-CoV-2 ウイルス液を 9:1 の割合で混合し、1 分後にサンプル中のウイルスタイトをプラーク法により測定した。

3. 新型コロナウイルスに対する漆喰シート製品の不活化効果検証

漆喰成分を含むシート製品 (株式会社トクヤマ製品) の 1cm 径試験片に、新型コロナウイルスのウイルス液 50 μ l を 10 分間接触後、ウイルスタイトをプラーク法より測定した。

4. 新型コロナウイルスに対する酸の不活化効果検証

酢酸、クエン酸、シュウ酸を、水酸化ナトリウムを用いて pH2、pH4、pH6 に調整し、新型コロナウイルスのウイルス液と 9:1 の割合で混

合し、1 分後のウイルスタイターをブランク法により測定した。なお、各種酸水溶液とウイルス液となる細胞培養液との混合により pH に変化がないことは確認している。

(倫理面への配慮)

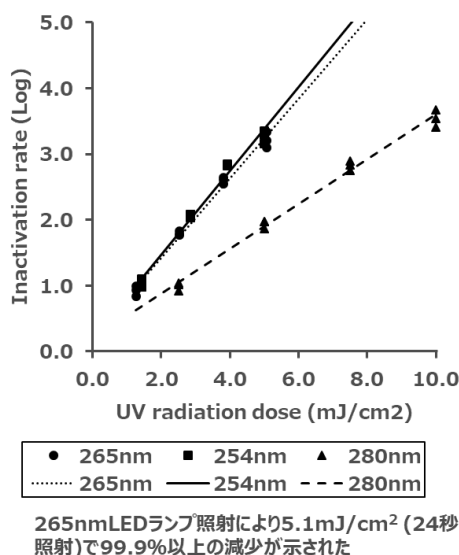
特記事項なし

C. 研究結果

1. 新型コロナウイルスに対する紫外線の不活化効果検証

265nmLED ランプ照射は 5.1mJ/cm² (24 秒照射) で 99.9%以上の減少を示し、254nm 水銀ランプ照射と同程度の不活化効果を示した。また、265nmLED ランプ照射においても、7.5mJ/cm² (45 秒照射) で 99.8%以上の減少が示され、265nm および 280nm ランプによる不活化効果が確認された (図 1)。

図 1 紫外線照射後のウイルスタイター減少度

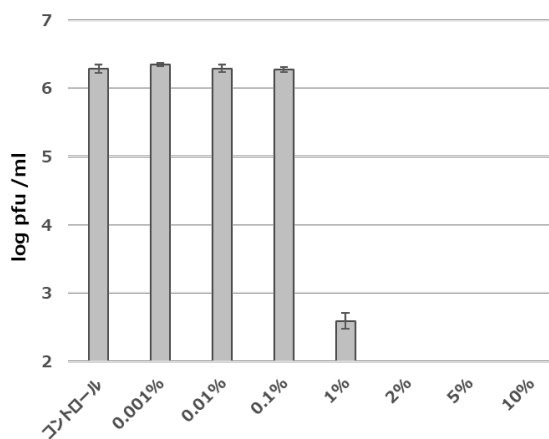


2. 新型コロナウイルスに対する市販石鹼の不活化効果検証

培養細胞に対する石鹼液の細胞毒性のため、高い濃度だと検出限界高くなってしまいが、

1%希釈石鹼以上の濃度で、99.97%以上の不活化効果が示され、石鹼液による新型コロナウイルスに対する不活化効果が確認された (図 2)。

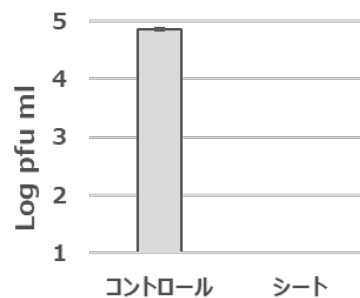
図 2 石鹼液混合後のウイルスタイター



3. 新型コロナウイルスに対する漆喰シート製品の不活化効果検証

コントロールに比較し、シート接触後ではウイルスタイターが検出限界以下となり、99.98%以上の減少が確認された (図 3)。

図 3 漆喰シート接触後のウイルスタイター

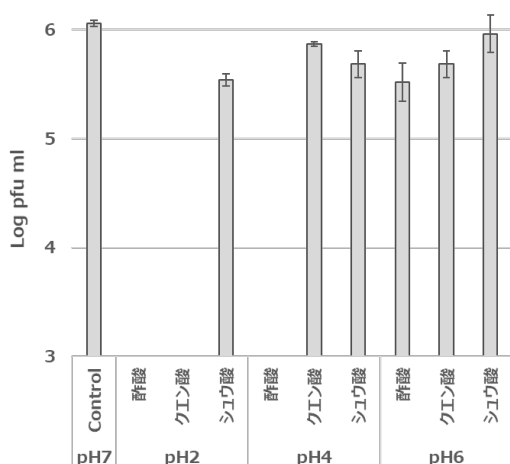


4. 新型コロナウイルスに対する酸の不活化効果検証

pH2 において、酢酸、クエン酸では検出限界以下まで不活化がみられたが、シュウ酸で

はウイルスタイターの顕著な減少がみられなかった。pH4では、酢酸の不活化効果がみられたが、クエン酸、シュウ酸ではみられなかった。一方、pH6では、いずれの酸も不活化効果が確認されなかった(図4)。

図4 各酸との混合後のウイルスタイター



D. 考察

紫外線によるウイルス不活化は有効な手段だが、一般的に用いられる水銀ランプは、水銀を用いることから環境への影響の懸念がある。そこで水銀を使用しないLEDランプの有用性が注目されている。本研究により波長265nm深紫外LEDが、254nm水銀ランプと同程度の不活化効果が示されたことで、安全キャビネットや紫外線滅菌装置等におけるLEDランプ利用の根拠となる情報提供となった。今後、より実生活に近い状況での検証として、唾液、体液等中のウイルスに対する効果、空間中のウイルスに対する効果、人体への害が少ないUV-A等のより波長の長い紫外線の効果、新型コロナウイルス以外のウイルスに対する効果などの検証が有用と考えられた。

石鹼の検証において、実際の手洗い等では洗い流す効果が大きいですが、家庭等で一般的に使用される石鹼の新型コロナウイルスに対する不活化効果が実験的に示されたことから、同様の製品を含む石鹼の利用による有効性を示す情報提供となった。今後は、泡状にした時の効果、唾液、体液等中のウイルスに対する効果などの検証が有用と考えられる。

シート状製品のウイルス不活化効果検証には、抗菌性試験(ISO22196)をウイルスに置き換えた評価試験(ISO21702)が知られている。しかしながら、抗菌性とウイルス不活化では意味が大きく異なるため、本研究による漆喰シートの検証においては、より実生活に近い状況を想定した上で、ISO21702にくらべ、少ないウイルス量、数分間の接触、自然乾燥も含む条件等を含めた方法を用いて検証を行い、漆喰シートのウイルス不活化に対する有効性を示した。したがって、ISO21702の方法に限らないシート状の抗ウイルス効果検証の方法も示した情報提供となった。

弱酸(酢酸、クエン酸、シュウ酸)を用いたウイルス不活化検証の結果、酸の種類とpHに依存した新型コロナウイルスに対する不活化効果が確認された。しかしながら、興味深いことに、同じpHでも酸の種類により効果が違うことが確認され、酢酸では効果が期待できるが、シュウ酸では効果が期待できないことが示唆された。酸による効果の違いは、単にpHではなく、エンベロープを構成する脂質への浸透性やウイルスの構造タンパク質への変性効果に違いがあることが示唆され、今後の解析が有用と考えられた。

E. 結論

本研究により、新型コロナウイルスに対する 265nm 深紫外 LED による不活化効果、市販石鹼による不活化効果、漆喰シート製品による不活化効果、酢酸、クエン酸による不活化効果が確認され、新型コロナウイルスの不活化法に関する新たな知見が得られた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Shimoda H, Matsuda J, Iwasaki T, Hayasaka D*. Efficacy of 265-nm ultraviolet light in inactivating infectious SARS-CoV-2. Journal of Photochem Photobiol. 2021, 7, 100050.

2. 学会発表

該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
(分担) 研究年度終了報告書

新型コロナウイルス等の消毒・滅菌法に関する文献等調査

研究分担者 黒崎 陽平 長崎大学高度感染症研究センター・准教授

研究要旨

「感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き」の改訂に向け、新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)に限らず他の感染症にも有効な消毒・滅菌法に関する国内外の文献調査を行った。WHO 実験室バイオセーフティマニュアル改訂版の記載項目を整理した。また、高病原性ウイルス取り扱い実験室で利用される消毒剤に関する情報収集を行うとともに、国内利用における課題点を明らかにした。

A. 研究目的

令和2年1月末にWHOが国際緊急事態宣言を出した新型コロナウイルス感染症(COVID-19)は、令和2年1月以降、わが国でも全国的な新規感染者の報告が続いている。COVID-19パンデミックは、我が国においても医療機関のみならず、市中においても消毒薬の深刻な供給不足が生じ、消毒剤の有効性を謳う物資の情報氾濫をも引き起こした。今回直面した公衆衛生上の非常事態時における消毒薬の供給不足を省み、「感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き(以降、手引き)」に記載されていない消毒・滅菌方法の追加が必要である。現行版の改訂に向け、新型コロナウイルスに限らず他の感染症を引き起こす病原体にも有効な消毒・滅菌法に関する国内外の文献調査を行い、改訂に必要な情報整理、改訂要件の提案を行うことを目的とする。

B. 研究方法

WHO等海外機関が公開する実験室バイオセーフティ指針に記載される消毒・滅菌法に関する情報を収集し、消毒・滅菌に関する

記載項目の要点を整理した。

高病原性ウイルスを対象とした消毒・滅菌法に関する学術論文を収集し、国内における実用性について評価した。

米国および欧州の製品認証機関から提供されるCOVID-19に対して有効な消毒剤に関する情報について、対象機関のホームページやウェブ等より情報収集を行った。

(倫理面への配慮)

該当なし

C. 研究結果

WHO 実験室バイオセーフティマニュアルの改訂版が2020年12月に第4版として公開された。第3版から構成が大幅に改訂され、消毒・滅菌に関する附属書(Monograph)「Decontamination and Waste Management」が新たに設けられた。四級アンモニウム化合物に関して、病原体に対する作用スペクトルは狭いものの、安定性が高く、材質への腐食性、呼吸器への刺激性が低い等の特性から、エンベロープウイルスが主に含まれる試料の消毒には最良である可能性が記述された。一方、効果を減弱させる要因とし

て、有機物や成分を吸着する繊維素材などが指摘され、エンベロープウイルスに対する消毒効果の評価においては懸念すべき点と考えられた。

高病原性ウイルスを取り扱うスーツ型バイオセーフティレベル-4(BSL-4)実験室では陽圧防護服や実験室内の除染用として四級アンモニウム消毒剤が使用されている。各国 BSL-4 施設で使用されている消毒製剤について、公開文書、文献を用いて調査した。最も多くの国で利用される製剤 MicroChem Plus(米国 National Chemical Laboratories 社製) について国内利用の可能性を調べたところ、安定的な輸入ルートが限定されていること、製剤の添加剤として利用される界面活性剤が内分泌かく乱物質と類似構造を持つことからその環境負荷が懸念されることが明らかになった。国内スーツ型 BSL-4 施設における消毒製剤について、安定した供給が確保され、環境負荷の少ない消毒剤を検索する必要があると考えられた。

また、米国および欧州の公的機関から提供されている COVID-19 に対して有効な消毒剤の情報提供の内容について調べた。米国では、環境保護庁(Environment Protection Agency, EPA)より SARS-CoV-2 に対して有望な市販品 573 品目(2021年9月時点)が公表されており、有効成分では QAC が最も多く、塩素系、および過酸化水素を含め全体の 8 割を占めた。また EPA では、COVID-19 以前より結核、MRSA、B 型・C 型肝炎、鳥インフルエンザ等感染症について、消毒剤を迅速に市場に供給できるよう有効性が期待できる市販品をリスト化し、公表していた。EU では、ECHA(European Chemicals

Agency)が、ユーロ圏の国及びメーカーが SARS-CoV-2 に有効な消毒剤を市場に迅速に投入できるようにするため、有効成分(化学物質)レベルでの有効性の承認、審査を実施しており、それらのリストが随時公表されている。有効成分を含む各消毒剤製品の承認は各国機関に委ねられていた。

D. 考察

「感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き」現行版は、1-5 類感染症を起こす病原体毎に有効な消毒剤成分、濃度、および一部市販製品名が記載されているが、WHO 等の最新のガイドラインを下に、実験室等での実際の使用状況も考慮した記述方法も必要である。今回調査した諸外国の消毒剤に関する公表内容は、有効性が期待される成分や市販製品を広くリスト化するなど、一般消費者にも近い、具体的な情報であった。手引きの改訂内容を具体化する際に、諸外国の記述事例、情報提供の形態を参考にすることができると考えられる。

E. 結論

WHO 実験室マニュアルの改訂内容を踏まえた「感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き」の改訂が必要であり、その情報提供のあり方については更なる検討を要する。また SARS-CoV-2 を含む高病原性ウイルス等に対する実験室における消毒製剤については、安定的な供給網の確保や環境負荷も考慮し選定する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
(分担) 研究年度終了報告書

個人防護具の再利用を可能にする新たな消毒方法の確立に関する研究

研究分担者 河合 康洋 国立感染症研究所安全実験管理部第一室長

研究要旨

令和2年1月末にWHOが国際緊急事態宣言を出した新型コロナウイルス感染症(COVID-19)は、わが国では同年2月に感染症法の指定感染症に指定され、現在も全国で新規感染者の報告が続いている。COVID-19に対する感染対策の一つに個人防護具があるが、流行によって供給不足に陥り社会問題となった。本研究では再利用を目的とした新たな個人防護具の消毒方法として、過酸化水素蒸気を含む候補物質について不活化条件(濃度、処理時間等)を検討した。その結果、今回用いた除染方法による個人防護具の再利用が可能であることが示された。また、実際のウイルスを用いた実証実験方法も確立できた。今後は、今回確立した実証実験方法を用いて候補物質をさらに検討するとともに、様々な個人防護具に適用の範囲を広げる必要がある。

A. 研究目的

本研究では再利用を目的とした新たな個人防護具の消毒方法として、過酸化水素蒸気、その他候補物質について不活化条件(濃度、処理時間等)を検討する。また、製造メーカー毎に素材、形状が異なるため、複数の製品を用いて不活化条件、および処理後の残留について検証した。また、新型コロナウイルス等の病原体に対する効果を検証する方法も策定した。

B. 研究方法

本研究に用いた除染装置は、過酸化水素蒸気発生源としてミストジェネレーター(AG-5 Generation Unit)を用い、密閉容器(MC 40H)に注入した。暴露後、濾過フィルターを用いてクリーンエアだけを循環させて

濃度を低下させた。本除染装置を用いて、種々の濃度の過酸化水素原液(3.75、7.5、および30%)を用いてミスト発生時の庫内濃度をそれぞれ25、70、および100ppmに設定し、様々な暴露時間(15、30、60、および120分)による除染効果を検討した。チャンバー内の過酸化水素濃度はセンサーモジュール(型式:00-1169)を用いて測定し、除染の効果については、バイオロジカルインジケータ(ACE test H3726-2)、およびケミカルインジケータ(Seal Sure ケミカルインジケータ)を用いて判定を行った。また、本研究にはN95規格のマスク、およびDS2規格のマスクを用いて除染条件を検討した。マスクへの残留過酸化水素濃度は、種々の換気時間後(24、36、48、60時間)にパックテスト(WAK-H₂O₂)を用いて計測を行った。

各試験は3回以上実施した。

病原体を用いた実証実験には、SARS-CoV-2のウイルス株として中国武漢由来株(WK-521)を使用した。ウイルス株は2%ウシ胎仔血清含有ダルベッコ改変イーグル培地(2% FBS-DMEM)にて 1×10^5 TCID₅₀/mLとし、これをポリスチレン製24穴細胞培養プレートに予め配置した種々のN95規格のマスクを切り取った小片上に5 μ Lずつ接種した。2% FBS-DMEM 500 μ Lで接種後乾燥したウイルス液を回収し、希釈後TMPRSS2発現Vero E6細胞に接種してウイルス価を測定した。

(倫理面への配慮)

特記事項なし

C. 研究結果

種々の濃度の過酸化水素蒸気の発生源濃度を検討した結果、7.5%、および30%溶液を用いた際に除染効果が認められたが、3.75%溶液使用時には今回試験した暴露時間内に安定した除染効果が得られなかった。また、発生原液7.5%、および30%を用いた際、それぞれ30分、および15分以上の暴露時間で除染効果が認められた。

次に除染が認められた条件(過酸化水素濃度7.5%、暴露時間30分)で処理後の種々の換気時間による残留過酸化水素の残留濃度を各種マスクにおいて検証した。その結果、マスクによって減衰に差は認められたが、48時間換気後には残留過酸化水素濃度が1ppm以下に減衰していた。

D. 考察・結論

今回行った除染方法によるマスクの再利用が可能なが明らかとなった。また、種々のN95マスク上でのウイルス検出が可能であったことから、実際のウイルスを用いた実証実験の検証方法も確立した。

今後は、今回確立した検証方法を用い、その他の薬剤(過酢酸ナトリウム、二酸化塩素)や、マスク以外の個人防護具においても試験を実施し、幅広い分野において適応できるか検証する必要がある。

E. 研究発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
(分担) 研究年度終了報告書

新型コロナウイルスの不活性化評価系の改良と有効物資探索に関する研究

研究分担者 高木 弘隆 国立感染症研究所安全実験管理部主任研究官

研究要旨

未だ感染拡大の周期を頻繁に繰り返す新型コロナウイルス感染症の感染制御の一環として、現状に即した実効性の高い制御手法の検討を行った。口腔ケア用品や薬用トローチなどに含有される塩化セチルピリジニウム(CPC)25-100ppm による新型コロナウイルス(nCoV)の不活性化は緩やかではあるが経時的感染価減衰が認められた。紫外線 UV-C 照射による CoV の感受性は α CoV と β CoV で大きな差異が認められ、 β CoV である nCoV は感受性が非常に高かった。ヒト唾液に nCoV を加えた試料に対し、エタノール(EtOH)、次亜塩素酸ナトリウム(NaClO)および塩化ベンザルコニウム(BZC)による経時的感染価減衰を検討したところ、いずれも速やかに減衰し、20-40 秒で 99.8-99.999%の減衰率を示した。

A. 研究目的

2009 年より感染が拡大し、現在も全世界的に感染の拡大・縮小、および変異株の出現を繰り返している新型コロナウイルス感染症(COVID-19)はワクチン接種が進んでいる現在でも、その勢いはとどまらない。またワクチンによる獲得免疫をかいくぐるかのごとく、変異株が出現し、現時点で主流となっているオミクロン株はこれまで感染・発症に至りにくいとされていた 12 歳以下の年齢層でも感染するようになり、これを発端する家庭内感染数が増加している。このようにワクチン接種率の伸び悩みや治療薬の普及がままならない状況において、これまでの感染対策の継続と徹底はもちろんであるが、より効率的かつ実効性の高い方法は渴望されている。そうした状況を鑑み、新型コロナウイルス(nCoV)に対し、①口腔ケアや咽頭の消毒に使用されている塩化セチ

ルピリジニウム(CPC)、②紫外線 UV-C に対する感受性、および③ヒト唾液に nCoV を含有させての基本消毒剤の効果、について検討することとした。

B. 研究方法

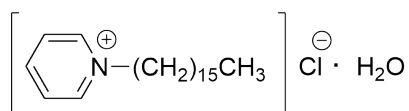
(1)塩化セチルピリジニウム(CPC)による nCoV 不活性化の検討

CPC は咽頭うがい液、マウスウォッシュ、歯磨き剤や薬用ドロップなど含まれており、主に口腔内の殺菌を目的とした医薬品として使用されている。本剤は陽イオン界面活性剤であるため、塩化ベンザルコニウム(BZC)や塩化ベンゼトニウム(BZN)と同様に新型コロナウイルスに対する不活性化効果が期待できる。

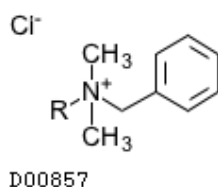
一方、含有量から想定される CPC 濃度は 25-50ppm と低濃度であるため、この濃度範囲をカバーする濃度-時間での感染価減衰

の検証が必要となる。また構造式においても BZC や BZN とかなり異なる(図 1)ため、吸着レジンの選定も必要と考えられた。

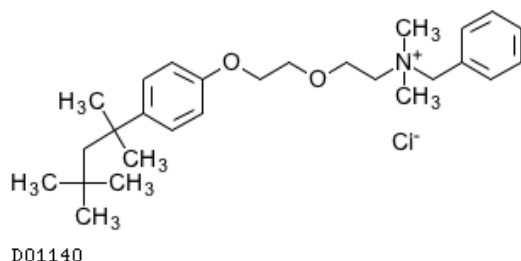
図 1. 各種陽イオン界面活性剤の構造式
CPC



BZC



BZN



今回①CPC 除去用吸着レジン選定とそれに伴う試験プロトコールの見直し、②見直したプロトコールに基づき、CPC25-100ppmでの新型コロナウイルス感染価減衰 time-course を検証した。

CPC 原体は東京化成工業より入手 (A5161)し、精製水にて 2%w/v に調製後φ 0.2 μ m フィルターにてろ過滅菌したものを test-stock とした。使用時にこれを滅菌水で希釈して必要な濃度に再調製した。選定用吸着レジンには SM-2(BIORAD)、SP-850、HP-

20(DIAION)、XAD-7,-18,-1180、FPX66 (Amberlite)の 7 種類を用い、各レジン bed-volume 100 μ L に CPC 溶液(250-1000ppm)30 μ L と 5%FBS 含有 DMEM180 μ L を混合したものを加えて混合して 5 分静置後、陽イオン界面活性剤検出試験紙(QC-1001、MICRO ESSENTIAL Lab)に上清を滴下しその黄→緑への変色が最も生じにくいもの検索した。

供試 nCoV は SARS-CoV-2_#521(Wuhan)とし、 1.6×10^7 TCID₅₀/50 μ L に調製し、CPC との反応比は 1:9、吸着レジンには先に選定したものをを用い、NITE 報告の既報となっているプロトコールに従い実施した。

(2)紫外線 UV-C に対するコロナウイルスの感受性の検討

実験動物への免疫用不活化全粒子抗原を作成する上で有効とされる紫外線(UV-C)照射について、αコロナウイルスとして豚伝染性胃腸炎ウイルス(TGEV)とβコロナウイルスである SARS-CoV-2 について、感受性比較を行った。

供試 CoV 及び培養細胞は TGEV 弱毒 h-5 株/ST 細胞、SARS-CoV-2_#521(Wuhan)/E6・TMPRSS2 細胞とし、照射装置は SUV-6(アズワン、λ 254nm ; 6W×1)および CL-206(コスモバイオ、λ 254nm ; 6W×2)を用いた。氷冷下のアルミブロック上で 0.2mL チューブに各々のウイルス液 60 μ L ずつ分注し、安全キャビネット内にて、紫外線強度 0.8 ないし 1.5mW/cm² で照射した。経時的にチューブを回収し、マイクロプレート/end-point assay により、各々の感染力価を算出した。

(3)ヒト唾液中 nCoV に対する基本的な消毒による不活性化検討

nCoV の重要な感染源のひとつとして、ウイルスが含まれる唾液飛沫が挙げられる。特に飲食業界や家庭内における感染制御対策として、こうした飛沫の消毒は重要であるが、これまでヒト唾液を素材とした消毒効果の検証はされていない。今回ヒトプール唾液に nCoV をスパイクした試料を作成し、60%v/v エタノール(EtOH)、136ppm 次亜塩素酸ナトリウムおよび 0.05% BZC による不活性効果を検討した。

供試 nCoV 及び培養細胞は SARS-CoV-2_#521(Wuhan)/E6・TMPRSS2 細胞とし、ヒトプール唾液は Normal Saliva pooled Human Donors(LEE BIOSOLUTIONS ; コスモバイオ)を購入して使用した(以降 プール唾液)。プール唾液は解凍して数日冷蔵静置後、PCR によるマイコプラズマ陰性を確認して、 $\phi 0.2 \mu m$ フィルターにてろ過滅菌した。プール唾液:ウイルス液を 9:1 で混合し、nCoV 含有プール唾液を作成した(以降 nCoV 唾液)。この唾液サンプルに EtOH 及び NaClO は混合比(nCoV 唾液 : 薬剤)1 : 9 で、BZC は混合比 1 : 1 で反応させ、NITE 報告の既報となっているプロトコールに従い経時的感染価減衰を検討した。

(倫理面への配慮)

該当なし

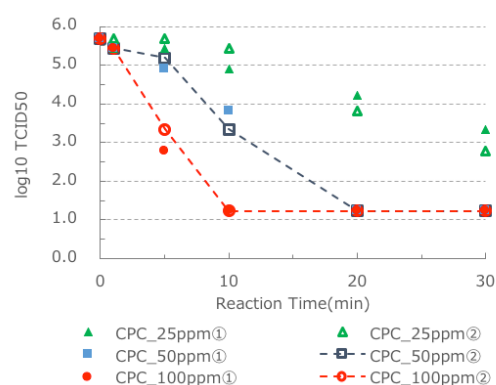
C. 研究結果

(1)CPC による nCoV 不活性化効果

吸着レジジン選定により FPX-66 が CPC 吸着に優れていることが示され、プロトコールに採用した。感染価減衰 time-course 試験において、CPC-100ppm では反応後 10 分、CPC-50ppm では 20 分で $4\log_{10} \text{TCID}_{50}$ 以上の減衰を示し、検出限界以下となった。25ppm で

は緩やかな減衰を示し、最長 30 分の反応でも $2\log_{10} \text{TCID}_{50}$ の減衰に止まった(図 2)。

図 2. CPC による SARS-CoV-2 感染価減衰(濃度×時間)



ここで break-point を $2\log_{10}$ 減衰(99%減衰)とした場合、100ppm では 5 分、50ppm では 10 分となり、一般的な使用方法・濃度を鑑みた場合、これまで BZC や BZN 0.05%(500ppm)でみられたような即応性は認められなかった。

(2)紫外線 UV-C に対する CoV 感受性

紫外線強度と照射時間から joule 換算を行い、感染価減衰グラフを作成した(図 3a, 3b)。

図 3a. TGEV(α CoV)の UV-C 感受性

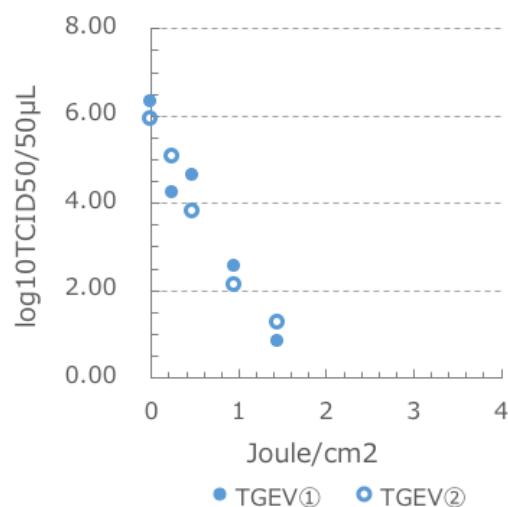
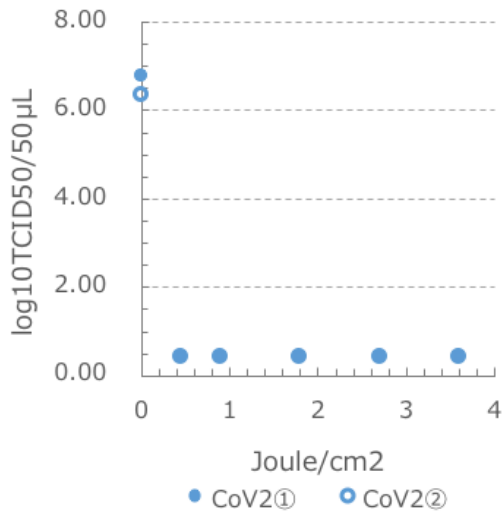


図 3b. SARS-CoV-2(β CoV)の UV-C 感受性



グラフからも明らかに nCoV のほうが感受性が非常に高いことがわかる。さらに各ウイルス 1TCID₅₀ を不活性化するのに必要なエネルギー量(J/cm²)を計算すると、TGEV で 9.59×10^{-7} 、nCoV で $\leq 1.13 \times 10^{-7}$ となり、TGEV(α CoV)のほうが8.5倍以上のエネルギーを要することが示された。

(3)nCoV 唾液の基本消毒剤による不活性化

60%v/v EtOH、136ppm NaClO、および 0.05% BZC による唾液中 nCoV の不活性化について、唾液を PBS(-)とした control と比較したところ、60%v/v EtOH で反応 20 秒後でのみ感染価減衰にバラツキが認められたものの、それ以上の反応時間では速やかに検出限界(0.42log₁₀)以下となった(図 4a、4b)。NaClO(図 5a、5b)と BZC(図 6a、6b)では反応 20 秒後に速やかに検出限界(NaClO : 0.42log₁₀、BZC : 1.27log₁₀)以下となり、control との差異も認められなかった(図 6a、6b、6c)。nCoV 唾液における感染価減衰率は初発ウイルス力価が低下した BZC で 99.8%以上/20 秒、NaClO で 99.996%以上/20 秒、EtOH では 99.999%以上/40 秒となった。

図 4a. 60%v/v EtOH による nCoV 唾液の感染価減衰

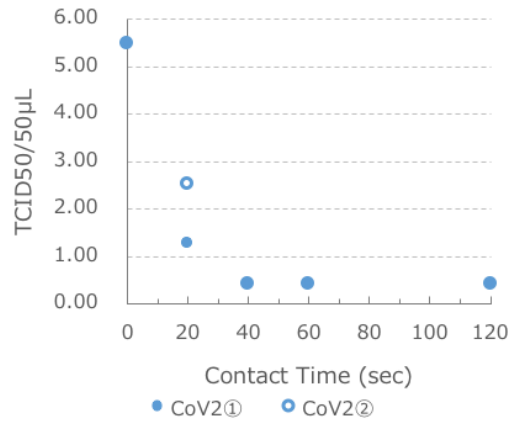


図 4b. 60%v/v EtOH による nCoV 含有 PBS(-) の感染価減衰(control)

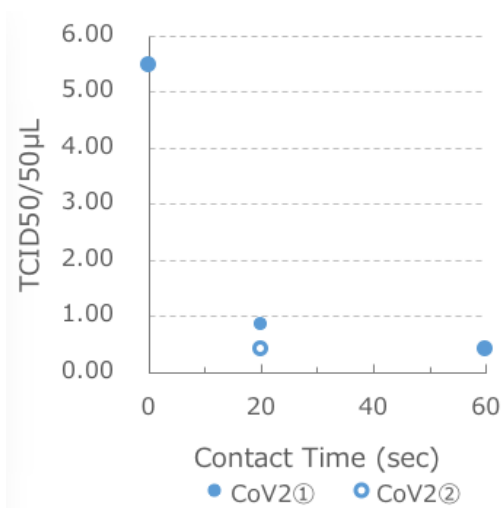


図 5a. 60%v/v EtOH による nCoV 唾液の感染価減衰

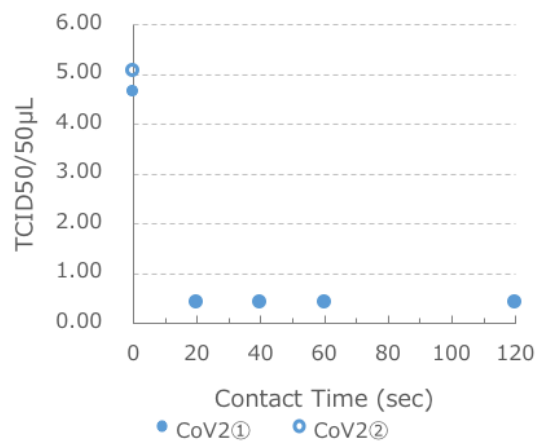


図 5b. 60%v/v EtOH による nCoV 含有 PBS(-) の感染価減衰(control)

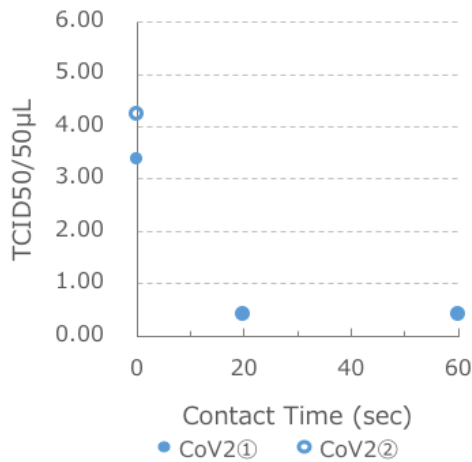


図 6a. 0.05% BZC による nCoV 唾液の感染価減衰

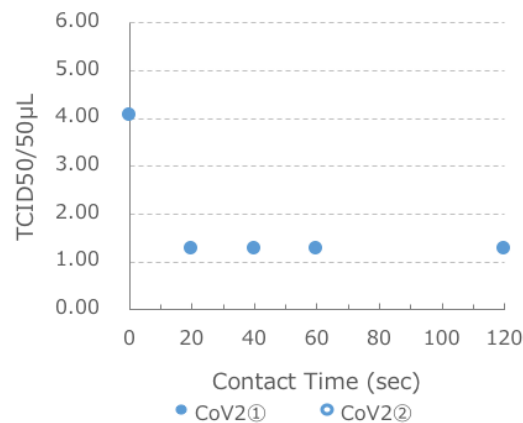
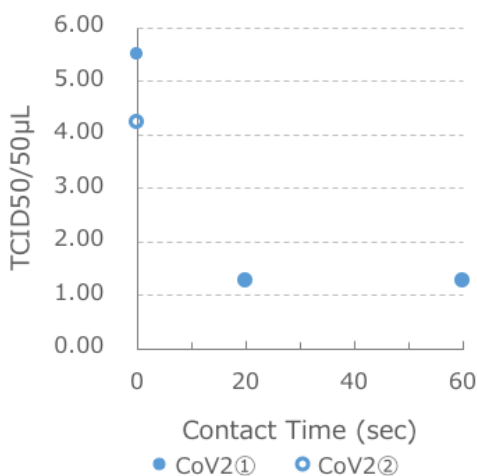


図 6b. 0.05% BZC による nCoV 含有 PBS(-) の感染価減衰(control)



D. 考察

(1)CPC の nCoV 不活性化効果については、大学や受託試験機関からの報告が散見されるが、いずれも口腔ケアや咽頭消毒に用いられる濃度の 5 倍から 10 倍程度の濃度によるものがほとんどであった。今回より実効性の高い手法として検証したところ、即応性はないものの一定の不活性化効果が認められている。医療従事者や介護従事者、また家庭内でのケアなど、コンタクトリスクの高い状況下で対応にあたる方々にとっては、一定の頻度での口腔すすぎや CPC 含有薬用トローチの活用などでリスク低減につながる可能性が考えられる。

(2)紫外線による不活性化についても、様々な報告が散見されるが、照射条件が明確でないケースや特定のデバイスによる広告的な報告も少なくない。また今回 α CoV と β CoV とで感受性に大きな差異があることも確認されており、当該手法による消毒などに当たる場合は、紫外線強度管理や対象物資の特性などを踏まえ、かつ、これからも出現するであろう変異株での感受性についてなど、バリデーションに必要なバックグラウンドデータの蓄積が必要と考える。

(3)nCoV 唾液の化学的不活性化については、血清や培地でみられるクエンチング成分などの影響は認められず、反応後速やかに不活性化されることが示された。エタノール製剤でのふき取りが困難なアクリル板(頻回で曇りが生じる)などの除染については、製剤の選択肢が増えたといってもよいであろう。NaClO については培養上清を試料とした不活性化検討の結果よりも、低濃度で速やかに感染価減衰することが確認されたが、飲食業などでの除染では食品由来有機物も考慮し、複数回の

清拭での対応が望ましい。また BZC などは消臭剤にも含有されていることが多く、構造的にも安定なため、事前塗布によるコーティングでの感染価減衰およびリスク低減が期待できるかもしれない。

E. 結論

今回検証した新たな製剤として、CPC は医療・介護従事者や家庭内における感染制御の一助になる可能性が示唆された。また紫外線 UV-C については nCoV での高い感受性が認められたものの、使用時のバリデーションにおける継続的なデータ収集の必要性が考えられた。そしてヒト唾液中の nCoV については、従来使用されている基本的な消毒剤で速やかに不活性化されることが確認できた。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
(分担) 研究年度終了報告書

新型コロナウイルスとインフルエンザウイルスに有効な消毒法に関する研究

研究分担者 伊木 繁雄 国立感染症研究所安全実験管理部主任研究官
研究協力者 高木 弘隆 国立感染症研究所安全実験管理部主任研究官
研究協力者 牛村 英里 国立感染症研究所安全実験管理部技術補助員

研究要旨

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) に対する消毒効果が報告されている市販の化学物質 (加速化過酸化水素を含む市販の除菌剤 3 種類及び界面活性剤 4 種類 : 0.1% 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム、0.0125%ヘキサデシルピリジニウムクロリド、0.05%塩化ベンゼトニウム及び 0.05%ドミフェン臭化物) について、加速化過酸化水素についてはメーカー推奨濃度で、界面活性剤については SARS-CoV-2 の不活化に有効とされる濃度において季節性インフルエンザウイルス (A/H1N1 型、A/H3N2 型及び B 型) に対する不活化効果を検討したところ、加速化過酸化水素を含む除菌剤 3 剤及び 0.1%直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウムの 4 剤については 3 種類の季節性インフルエンザウイルスに対し十分な不活化効果も備えている可能性を見出した。また、同一の薬剤・濃度であってもウイルスの型・亜型により有効性が異なることが確認された。

A. 研究目的

インフルエンザはわが国では毎年冬季に流行し、高齢者では肺炎による死亡例も多い。今後、冬季における COVID-19 とインフルエンザの混合流行が懸念されているが、医療現場はもとより介護施設や学校、飲食店、商業施設など人が多く集まる場所のほか、一般家庭においても継続的に消毒の徹底が図られることは言うまでもない。同一空間に COVID-19 とインフルエンザ両方の患者が共存する場面も増えることが見込まれることから、いずれのウイルスに対しても有効な消毒薬の需要が高まることが予想される。現在、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) への有効性を謳った多くの薬剤が紹介されている。しかし、薬剤の種類は非常に多く複雑

であるため、適切な手順を把握していなければ消毒効果が期待できなくなるばかりでなく、ケミカルハザードの原因ともなり得る。

本研究では、SARS-CoV-2 とインフルエンザウイルスの両方に対し同時に効果を発揮できる消毒薬の種類・濃度・時間について検証し、正確な情報を普及させることを目的とした。

B. 研究方法

加速化過酸化水素には、A: オキシヴィルファイブ (C×S (株)、有効濃度 4.25%)、B: オキシヴィル Tb (C×S (株)、有効濃度 0.5%) 及び C: オキシライト PRO ((株) カイコー

ポレーション、有効濃度 0.5%) を用いた。これらはいずれも製品使用時のメーカー推奨濃度である。また A については、濃度を他の 2 剤に合わせ 0.5% となるよう希釈した溶液も用いて比較した。

界面活性剤には、D: 0.1%直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (富士フィルム和光純薬) ①、E: 0.0125%ヘキサデシルピリジニウムクロリド (富士フィルム和光純薬) ②、F: 0.05%塩化ベンゼトニウム (富士フィルム和光純薬) ①及び G: 0.05%ドミフェン臭化物 (SIGMA) を用いた。これらについては、粉末試薬を各濃度になるよう超純水にて調製し、これを基準濃度とした。なお、各薬剤について 5 倍濃度の溶液も同様に調製して有効性を比較した。

各薬剤と $1 \times 10^8 \sim 2 \times 10^9$ /mL TCID₅₀ のインフルエンザウイルス (AH1 型(A/New Caledonia/20/99(H1N1))、AH3 型(A/Panama/2007/99(H3N2))または B 型(B/Shangdong/7/97)) を 80 μ L ずつ混合し、室温にて一定時間 (A は 3 分以上、B 及び C は 1 分以上、D 及び F は 1 分、E は 5 分) 放置後、界面活性剤 4 種については 160mg のバイオビーズ SM-2 (Bio-Rad) にて 5 分間処理して界面活性剤を除去した。ウイルスと薬剤の混合液はその後直ちに PBS(-) にて 10 倍階段希釈し、96 well プレート上の MDCK 細胞に 20 μ L / well 接種後、37°C で 30 分間吸着させた。吸着後は混合液を取り除き、100 μ L / well の PBS(-) にて 2 回洗浄し、0.05%アセチルトリプシンを含む E-MEM (ウイルス増殖培地) にて 4~6 日間培養した。陽性コントロール (PC) については、ウイルス液を薬剤と混合する際 2 倍に希釈されることから、希釈倍数 10⁰ の well

に接種されるウイルス濃度が原液の 1/2 となるよう PBS(-) にて調製した。各々 1 希釈倍数につき 4 well 使用した。

薬剤のインフルエンザウイルス不活化効果については、まず毒性の有無を目視にて判定した。なお、毒性の程度と毒性を呈する際の細胞の形状については、同濃度の薬剤のみで細胞を処理した場合と比較し判定した。続いて上清を除去後 100 μ L / well の PBS(-) にて 2 回洗浄し、4%パラホルムアルデヒド溶液にて細胞を固定した。プレートに残った細胞をメチレンブルーにて染色し、以下の式から TCID₅₀ を求め、1mL あたりの単位に換算した。PC についても同様に TCID₅₀ を算出した。

$$\text{TCID}_{50} = (1 \text{ 列目の希釈倍率}) \times (\text{希釈倍率})^{\Sigma-0.5}$$

Σ =各希釈段階における(変性 50%以上の well 数)/(検体数)の総和

各薬剤の有効性については、以下の式より算出した。

$$\text{有効性} = (\text{ウイルス力価}) / (\text{薬剤処理した際の TCID}_{50} \text{ (または細胞毒性)})$$

(倫理面への配慮)

なし

C. 研究結果

加速化過酸化水素は細胞毒性が強く、A では希釈倍数 2×10^3 まで、B 及び C では 2×10^2 まで毒性が見られた。この毒性はウイルスの細胞吸着に必要な 30 分間の接触に対する結果であるが、7 日間接触させた場合も結果は変わらなかった。A の濃度を 0.5% となるよう希釈すると、毒性は 2×10^2 に低下した。加速化過酸化水素を含む各薬剤は界面活性剤を含むが、界面活性剤除去

剤で処理しても毒性に変化は見られなかった。この結果から、加速化過酸化水素に含まれる界面活性剤の毒性はわずかであり、観察された毒性のほとんどは加速化過酸化水素によるものと判断した。このため加速化過酸化水素の SM-2 処理は行わず、細胞接種終了後混合液を除去するまで薬剤効果が持続している可能性がある。したがって、A～C の処理時間は所定の時間以上という表記とした。

メーカー推奨濃度における加速化過酸化水素のインフルエンザウイルス不活化効果を表 1a に示す。毒性が見られなかった well にはいずれも CPE は観察されなかった。有効濃度が最も高い薬剤 A のみ 10^2 以上の不活化効果であったが、薬剤 B 及び C では 10^3 以上の不活化効果が見られた。ただし薬剤 A も薬剤 B 及び C と同じ 0.5% に希釈すると細胞毒性が弱くなり、 10^3 TCID₅₀ 以上の不活化効果が見られた。これらの結果から、濃度 0.5% 以下においてインフルエンザウイルス A/H1N1 型、A/H3N2 型及び B 型に対し少なくとも 10^3 TCID₅₀ 以上の不活化効果があることが明らかとなった。

界面活性剤 4 種については、界面活性剤除去剤で処理しなかった場合は加速化過酸化水素同様 30 分処理でいずれも希釈倍数 2×10^2 まで毒性が見られたが、界面活性剤除去剤での処理により細胞毒性は検出されなくなった。

なお、D～F については SARS-CoV-2 の不活化に有効な濃度が報告されているためこれを基準濃度としたが、G についての報告はない。ドミフェン臭化物はトローチに含まれる成分であり、1錠あたり 0.5mg 程度含まれている。一方、1分間あたりの安静

時唾液分泌量については、一般に成人で 0.3mL、小児で 0.7mL 程度³⁻⁴⁾であるが、トローチ溶解までの時間を 3 分程度と仮定し、この間分泌される唾液量を 1mL 程度として $0.5\text{mg}/1\text{mL}=0.05\%$ を基準濃度とした。

基準濃度におけるインフルエンザウイルス不活化効果の結果を表 1b に示す。E、F、G で $1 \times 10^0 \sim 2 \times 10^2$ TCID₅₀ の不活化効果であったのに対し、D では A/H1N1 型及び B 型に対し 3×10^6 TCID₅₀ の不活化効果が見られた。ただし D であっても A/H3N2 型に対しては 6×10^3 TCID₅₀ の不活化効果に留まった。

基準濃度の 5 倍濃度では、D では基準濃度に比べ A/H1N1 型及び B 型に対する不活化効果の上昇が見られず、A/H3N2 型に対しても 10^1 TCID₅₀ 程度の上昇に留まった。一方 E、F、G では、B 型ウイルスに対し基準濃度に比べ 10^2 TCID₅₀ 以上の上昇をもたらした。F では 1×10^3 、G では 1×10^4 の不活化効果をもたらした。ただし A/H1N1 型ウイルスに対しては 10^2 TCID₅₀ 以下の上昇に留まり、G で 1×10^3 の不活化効果が見られたのみであった。

D. 考察

今回用いた界面活性剤のうち、基準濃度以上の濃度であればインフルエンザウイルス A/H1N1 型及び B 型ウイルスに対し 10^5 TCID₅₀ 以上の、A/H3N2 型ウイルスに対しては 10^3 TCID₅₀ 以上の不活化効果をもたらすことが明らかとなった。ただし、この薬剤は濃度を 5 倍に上げても有効性が大きく上昇することがなかったことから、有効性の限界があるのかも知れない。一方 E、F、G については、基準濃度でのインフルエンザ

ウイルス不活化効果は D に比べ低かったが、5 倍濃度では F で B 型ウイルスに対し、G において A/H1N1 型及び B 型ウイルスに対し 10^3 TCID₅₀ 以上の不活化効果をもたらすことが明らかとなった。また今回検証した界面活性剤はいずれも、インフルエンザウイルスの型・亜型により有効性が異なり、特に A/H3N2 型ウイルスに対しては有効性が低くなる傾向が見られた。

E. 結論

本研究により、SARS-CoV-2 に対し消毒効果が見いだされる薬剤のうち、A、B、C 及び D の 4 剤については季節性インフルエンザウイルスに対する有効性も備えており、さらに F 及び G についてもインフルエンザウイルス A/H1N1 型または B 型であれば SARS-CoV-2 と同時に対応できる可能性を見出だした。本研究結果は、「感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き」の改訂において有益な情報となるものと考えられる。

参考文献：

1) 独立行政法人製品評価技術基盤機構. 新型コロナウイルスに有効な界面活性剤を公表します (第二弾) .

<https://www.meti.go.jp/press/2020/05/20200529005/20200529005.html>.

2) 大正製薬(株), 熊本大学. セチルピリジニウム塩化物水和物 (CPC) の新型コロナウイルス不活化作用を確認

<https://www.kumamoto-u.ac.jp/daigakujouhou/kouhou/pressrelease/2021-file/rerelease211025.pdf>.

3) 中村昭博ら. 口腔内の異なった部位における唾液 pH の長時間モニタリング. 明海

歯科医学. 2020; 49(1): 15-22.

4) 工藤典代ら. 小児の安静時唾液分泌量の検討. 小児耳鼻咽喉科. 2014; 35(1): 17-20.

F. 研究発表

Iki S, Sekiguchi K, Kurata Y, Shimizu E, Sugiura A, Yuasa H, Hanaki KI. Effects of various physical and chemical disinfection methods on the fine particle collection efficiency of N95 respirators and surgical masks. Jpn J Infect Dis. 2021. DOI: 10.7883/yoken.JJID.2021.663

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表 1 加速化過酸化水素及び界面活性剤のインフルエンザウイルスに対する不活化効果

a) 加速化過酸化水素

型	薬剤の有効性*				ウイルス 力価 (TCID ₅₀ /mL)
	A(4.25%) **	A(0.5%) ***	B****	C****	
A/H1N1	≥1×10 ²	≥1×10 ³	≥1×10 ³	≥1×10 ³	1×10 ⁸
A/H3N2	≥6×10 ²	≥6×10 ³	≥6×10 ³	≥6×10 ³	7×10 ⁸
B	≥2×10 ²	≥2×10 ³	≥2×10 ³	≥2×10 ³	2×10 ⁸

b) 界面活性剤（基準濃度）

型	薬剤の有効性*				ウイルス 力価 (TCID ₅₀ /mL)
	D	E	F	G	
A/H1N1	3×10 ⁶	3×10 ⁰	2×10 ⁰	3×10 ¹	2×10 ⁹
A/H3N2	6×10 ³	2×10 ¹	2×10 ¹	3×10 ¹	2×10 ⁸
B	3×10 ⁶	1×10 ⁰	6×10 ⁰	2×10 ²	7×10 ⁸

c) 界面活性剤（5倍濃度）

型	薬剤の有効性*				ウイルス 力価 (TCID ₅₀ /mL)
	D	E	F	G	
A/H1N1	6×10 ⁵	6×10 ¹	2×10 ²	1×10 ³	7×10 ⁸
A/H3N2	6×10 ⁴	1×10 ¹	6×10 ¹	1×10 ²	2×10 ⁹
B	6×10 ⁵	2×10 ²	1×10 ³	1×10 ⁴	1×10 ⁹

細胞毒性が現れた場合で CPE が観察されなかったケースについては、細胞毒性が見られた希釈倍数を TCID₅₀ の式に当てはめ薬剤の有効性*を算出し、不等号を用いた表記とした。

* (ウイルス力価) / (薬剤処理した際の TCID₅₀ (または細胞毒性)) より算出した。

**希釈倍数 10³ (1 well あたりのウイルス量 10²~10⁵/mL) まで細胞毒性あり。

***希釈倍数 10² (1 well あたりのウイルス量 10²~10⁴/mL) まで細胞毒性あり。

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
(分担) 研究年度終了報告書

温湿度統御下における新型コロナウイルスの生存性に関する研究

研究分担者 原田 俊彦 国立感染症研究所安全実験管理部主任研究官

研究要旨

本研究では新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の不活化条件を検討するにあたり、まず環境中でのウイルスの生残性を確認した。ポリスチレン製細胞培養プレートに複数のウイルス株を接種し、20°C/相対湿度 40%、または 30°C/相対湿度 80%にて一定時間静置した後、ウイルス価を測定した。その結果、20°C相対湿度 40%と比較して 30°C/相対湿度 80%中ではウイルスは急速に不活化されることが明らかとなった。本研究結果を基に他の材質や新たに出現した変異株について検討することで本ウイルスの更なる性状が明らかになることが期待される。

A. 研究目的

令和元年末に中国で発生した新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は世界中に拡大し、わが国でも令和 2 年 2 月に感染症法の指定感染症に指定され、現在も全国で新規感染者の報告が続いている。COVID-19 は新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) により引き起こされる。したがって生活環境 (家庭、公共交通機関、商業施設、医療施設等) や検査・研究を行う実験室における本ウイルスの適切な消毒・不活化方法の確立とその方法の周知はわが国の公衆衛生の向上に資するものと考えられる。本研究では SARS-CoV-2 の適切な不活化条件を探索するにあたり、まず環境中でのウイルス生残性について検討した。

B. 研究方法

SARS-CoV-2 のウイルス株として中国武漢由来株 (WK-521)、懸念される変異株

(variants of concern, VOC) よりアルファ株 (英国由来株, QK002) 及びベータ株 (南アフリカ共和国由来株, TY8-612) を使用した。各ウイルス株は 2%ウシ胎仔血清含有ダルベッコ改変イーグル培地 (2% FBS-DMEM) にて 1×10^6 TCID₅₀/mL とし、これをポリスチレン製 24 穴細胞培養プレートに 5 μ L ずつ接種した。プレートは小型環境試験器 (Espec SH-222) を用いて 20°C/相対湿度 40%、または 30°C/相対湿度 80%の条件下 0、24 または 48 時間静置した。2% FBS-DMEM 100 μ L で接種後乾燥したウイルス液を回収し、希釈後 TMRSS2 発現 Vero E6 細胞に接種してウイルス価を測定した。

(倫理面への配慮)

特記事項なし

C. 研究結果

わが国の中間期 (春・秋) 及び標準的な室

内環境を想定した 20°C/相対湿度 40%、または夏季を想定した 30°C/相対湿度 80%条件下でポリスチレン上の SARS-CoV-2 ウイルス株の生残性を調べた。

20°C/相対湿度 40%でのウイルス価は接種後 0 時間では $10^{5.00}$ (WK-521)、 $10^{5.63}$ (QK002)、 $10^{5.25}$ (TY8-612) TCID₅₀/mL であったが、接種後 48 時間では $10^{3.75}$ (WK-521)、 $10^{3.88}$ (QK002)、 $10^{4.50}$ (TY8-612) TCID₅₀/mL であった。一方、30°C/相対湿度 80%では接種後 0 時間では $10^{4.75}$ (WK-521)、 $10^{5.13}$ (QK002)、 $10^{5.38}$ (TY8-612) TCID₅₀/mL であったが、接種後 24 時間では $10^{1.88}$ (WK-521)、 $10^{2.13}$ (QK002)、 $10^{2.63}$ (TY8-612) TCID₅₀/mL となり、さらに接種後 48 時間では全ての株で検出限界 ($10^{1.75}$) 未満であった。接種後 0 時間と接種後 24 時間のウイルス価の差は 20°C/相対湿度 40%ではおよそ 0.4 ~ 1.1 log であったのに対し、30°C/相対湿度 80%ではおよそ 2.8 ~ 3.0 log であった。このことから SARS-CoV-2 は 20°C/相対湿度 40%と比べて 30°C/相対湿度 80%では 100 倍程度早く不活化されることが明らかとなった。なお、温湿度条件と比較すると株間に明らかな差異はなかったが、TY8-612 はやや安定性が高いように思われた。

D. 考察・結論

令和 4 年 3 月現在、わが国内の VOC はオミクロン株に置き換わっている。今回用いた方法によりオミクロン株または今後新たに出現する VOC に対して評価を行うことで、本ウイルスの更なる性状が明らかになることが期待される。

E. 研究発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

(別添5)

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shimoda H, Matsuda J, Iwasaki T, <u>Hayasaka D</u>	Efficacy of 265-nm ultraviolet light in inactivating infectious SARS-CoV-2	J Photochem Photobiol.	7	100050	2021
<u>Iki S</u> , Sekiguchi K, Kurata Y, Shimizu E, Sugiura A, Yuasa H, <u>Hanaki KI</u> .	Effects of various physical and chemical disinfection methods on the fine particle collection efficiency of N95 respirators and surgical masks.	Jpn J Infect Dis.		DOI: 10.7883/yoken.JJID.2021.663	2021
Hasegawa G, Sakai W, Chiaki T, Tachibana S, Kakiita A, Kato T, <u>Nishimura H</u> , Yamakage M.	Investigation into the efficacy of a novel extubation-aerosol shield: a cough model study	Infect Prev. Pract.	4(1)	100193	2022

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 感染症法に基づく消毒・滅菌の手引きの改訂に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全実験管理部・部長
(氏名・フリガナ) 花木 賢一・ハナキ ケンイチ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する口にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣
 (国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
 (国立保健医療科学院長)

機関名 学校法人加計学園 岡山理科大学

所属研究機関長 職名 理事長

氏名 加計 晃太郎

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 厚生労働行政推進調査事業費補助金 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
- 研究課題名 感染症法に基づく消毒/滅菌の手引きの改訂に関する研究
- 研究者名 (所属部署・職名) 獣医学部・教授
(氏名・フリガナ) 森川 茂・モリカワシゲル

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	岡山理科大学	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	岡山理科大学	<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	岡山理科大学	<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	岡山理科大学	<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
 ・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和4年5月9日

厚生労働大臣
—(国立医薬品食品衛生研究所長)— 殿
—(国立保健医療科学院長)—

機関名 国立病院機構仙台医療センター

所属研究機関長 職 名 院長

氏 名 上之原 広司

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 感染症法に基づく消毒・滅菌の手引きの改訂に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 臨床研究部・ウイルス疾患研究室長
(氏名・フリガナ) 西村 秀一・ニシムラ ヒデカズ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣
 (国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
 (国立保健医療科学院長)

機関名 国立大学法人 山口大学

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 感染症法に基づく消毒・滅菌の手引きの改訂に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 共同獣医学部・教授
 (氏名・フリガナ) 早坂 大輔・ハヤサカ ダイスケ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
 ・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和4年4月1日

厚生労働大臣
—(国立医薬品食品衛生研究所長)— 殿
—(国立保健医療科学院長)—

機関名 国立大学法人長崎大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 河野 茂

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 感染症法に基づく消毒/滅菌の手引きの改訂に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 高度感染症研究センター・准教授
(氏名・フリガナ) 黒崎 陽平・クロサキ ヨウヘイ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入(※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査(※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針(※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他(特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 感染症法に基づく消毒・滅菌の手引きの改訂に関する研究
3. 研究者名 (所属部・職名) 安全実験管理部・室長
(氏名・フリガナ) 河合康洋・カワイヤスヒロ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 感染症法に基づく消毒・滅菌の手引きの改訂に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全実験管理部 主任研究官
(氏名・フリガナ) 高木 弘隆 (タカギ ヒロタカ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する口にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和4年 4 月 1日

厚生労働大臣
—(国立医薬品食品衛生研究所長)— 殿
—(国立保健医療科学院長)—

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 感染症法に基づく消毒・滅菌の手引きの改訂に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全実験管理部・主任研究官
(氏名・フリガナ) 伊木 繁雄・イキ シゲオ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する口チェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
2. 研究課題名 感染症法に基づく消毒・滅菌の手引きの改訂に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全実験管理部 主任研究官
(氏名・フリガナ) 原田俊彦 ハラダトシヒコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入(※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査(※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針(※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他(特記事項)

特になし

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。