

厚生労働行政推進調査事業費補助金
厚生労働科学特別研究事業
新型コロナウイルスに汚染されたりネン類等の新型コロナウイルス感染症への感染
リスクの評価及びそれらリネンの安全かつ効果的なクリーニング方法の検証
分担研究報告書

リネン取り扱い作業者の感染リスクの評価

研究分担者 藤田 烈 国際医療福祉大学 未来研究支援センター 准教授
研究協力者 松本 哲哉 国際医療福祉大学 医学部感染症学講座 主任教授
津島 健司 国際医療福祉大学 医学部呼吸器内科学講座 主任教授
大友 陽子 国際医療福祉大学成田病院 感染制御部

研究要旨：SARS-CoV-2 陽性者が使用したりネン類の交換作業によって生じる作業者の感染リスクを評価する目的で本研究を実施した。リネン交換作業者の空気感染リスクを評価するため、SARS-CoV-2 陽性者が使用したりネン類を使用開始から1日後、3日後、5日後、7日後に交換回収し、交換作業の前および交換作業中から作業後の空気サンプルを採取、ウイルス RNA を測定した。さらに、作業員の接触感染リスクを評価するため、リネン類の交換作業直後および SARS-CoV-2 陽性者鼻咽頭検体採取後に、作業者が着用していた PPE 表面（N95 マスク、ゴーグル、ガウン上下部）からサンプルを採取、ウイルス RNA を測定した。調査の結果、リネン類の交換作業中に作業者が着用していたガウンと空気サンプルの一部からウイルス RNA が検出されたが、いずれも Ct 値が 36 以上と高く、リネン交換作業者の臨床的な感染リスクは低いと判断された。

A. 研究目的

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）のパンデミックは、21 世紀において前例のない公衆衛生上の脅威を引き起こしている。WHO の報告によれば、2021 年 4 月時点の全世界の感染者数の累計は 146million に達し、累積死者数は 3million を超えている。

COVID-19 の原因微生物である SARS-CoV-2 は、飛沫感染、接触感染、特殊な状況下での空気感染によって伝播することが知られている。また、SARS-CoV-2 陽性者のウイルス RNA 平均排出時間は上気道で

発症後 17 日、感染伝播能力の持続期間は発症後 9 日程度と報告されている。環境表面に付着した SARS-CoV-2 は 3 日程度感染性を維持すると報告されており、患者周辺環境や患者が利用した器具を介しての接触感染の危険性が指摘されている。

我々は、パンデミックの初期に感染クラスターが発生したクルーズ船内の調査を行い、感染者が使用した寝具等のリネン類から SARS-CoV-2 の RNA が検出されたことを報告した。その後に報告された複数の論文においても同様に、患者が使用した枕カバー

やベッドシートなどからウイルス RNA が検出されることが報告され、これらが感染伝播に寄与する危険性が指摘されている。しかしながら、感染者が使用したリネン類の安全な回収方法は現在まで明らかにされていない。

我々は、SARS-CoV-2 陽性者が利用したリネン類の交換作業によって生じる作業員の感染リスク、を評価し、リネン類の安全な取り扱い方法を検討する目的で本研究を実施した。

B. 研究方法

a. 対象者

本試験はランダム化比較試験として計画された。被験者登録は、2020 年 9 月 16 日から 2020 年 11 月 19 日の期間に、有症状 COVID-19 患者を収容する病院と、無症状陽性者を収容する施設で行われた。病院では、鼻咽頭検体の PCR 検査が陽性であることが確認されて入院した有症状患者を対象とした。無症状陽性者収容施設では、近隣空港の検疫所で実施された抗原検査で陽性と判定され、入所した者を対象とした。病院では床面積 14.5 m²、部屋容積 36 m³の陰圧空調病室（病室内の換気回数 5.5 回/時間）患者の居室として利用し、無症状陽性者収容施設では床面積 12 m²、部屋容積 30 m³の個室（換気回数は不明）を利用した。

b. 居室内でリネン交換作業を行う作業員の感染リスクの評価

SARS-CoV-2 陽性者が使用したリネン類を使用開始から 1 日後、3 日後、5 日後、7 日後に交換回収し、交換作業の前および交換作業中から作業後の空気を採取した。シー

ツ類を交換するベッドから距離 50cm、高さ 100cm の場所に the Sartorius MD8 airscan sampling device (Sartorius AG)を設置し、sterile gelatin filters (80 mm in diameter and 3 μm pore size, T3 phage capture rate 99.94%) (Sartorius AG)を用いて 50 Liter per minute の条件で 2000 Liter の空気をろ過した。各ゼラチンメンブレンフィルターを細かく砕き、100 ml 遠心分離チューブに挿入した。5 ml の VTM をチューブに添加し、フィルターを 37° C で 15 分間振盪することにより完全に溶解し、ゼラチン溶液を RNA 抽出まで-80° C で保存した。

さらに、作業員の接触感染リスクを評価するため、リネン類の交換作業直後および SARS-CoV-2 陽性者鼻咽頭検体採取後に、作業員が着用していた PPE 表面 (N95 マスク、ゴーグル、ガウン上下部) からサンプルを採取した。サンプルは、φ 10×87mm の sterile flocked plastic swabs (EIKEN CHEMICAL)を用いて採取された。スワブは、サンプル採取の前に viral transport medium (Hanks' balanced salt solution (HBSS) containing 2% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS), 100 μg/ml Gentamicin, 50 μg/ml Amphotericin B, 8 μg/ml Tylosin, and 10 μg/ml Levofloxacin) 湿らせ、次いで、8mL の VTM を含有する φ 21.9×93.6mm のチューブに入れて準備された。

c. SARS-CoV-2 RNA の検出方法

全サンプルを国立感染症研究所 (の実験室 (BSL 2+) に輸送し、リアルタイム逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応 (rtRT - PCR)

により検査した。ウイルス RNA は、KingFisher Flex Purification System (ThermoFisher) を用い、MagMAX CORE 核酸精製キット (ThermoFisher) により鼻咽頭スワブ、リネンスワブ、PPE スワブなどのサンプルから抽出した。メーカーの指示に従って、200 μ l のサンプルからそれぞれ 60 μ l の RNA 溶出液を調製した。N 2 プライマーセットを用いた rtRT-PCR 混合物を、QuantiTect Probe PCR Kit (QIAGEN) を用いて、5 μ L の抽出 RNA、0.5 μ M のフォワードプライマー、0.7 μ M のリバープライマー、0.2 μ M の TaqMan プローブからなる 20 μ L の容量で調製した。LightCycler 480 (Roche) を用いて 50° C で 30 分間逆転写した後、95° C で 15 分間変性させた後、95° C で 15 秒間、60° C で 1 分間のサーマルサイクリングプロファイルを用いて 45 サイクル増幅し、国立感染症研究所が設定した標準曲線を用いて患者検体中のウイルスコピー数を算出した。

e. 統計解析方法

人口統計データについては、中央値(IQR、範囲)、頻度分布または割合を用いて要約統計を算出した。空気検体および PPE 検体からのウイルス RNA 検出割合と 95%信頼区間を算出した。病院と宿泊療養施設間の空気検体からのウイルス RNA 検出割合の差について、Fisher 直接確立検定で評価した。すべての統計解析は SAS V.9.4(SAS Institute, Cary, North Carolina, USA)を用いて行った。

f. 倫理的配慮

本研究はヘルシンキ宣言、人を対象とする

医学系研究に関する倫理指針および国内関連法規に従い、国際医療福大学成田病院の倫理審査委員会の承認（承認番号:20-Nr-066）を受けて実施された。

C. 研究結果

a. 被験者の属性

23 名の被験者が本試験に登録され、その中で Day1 と Day3 の鼻咽頭検体から SARS-CoV-2 RNA が検出された 13 名（無症状陽性者収容施設 6 名、病院 7 名）を解析対象集団とした。属性は、女性 7 人（54%）、年齢中央値 46 歳（四分位範囲 33-55 歳）、7 人（53.8%）が有症状者で残りは無症状であった。有症状者の臨床症状はいずれも軽度であり、National Institutes of Health による重症度分類 (1:NIH) で中等症以上に該当する肺炎患者はいなかった。調査期間中の居室内の平均気温は 24.2°C ($\pm$ 1.2)、平均湿度は 47.8% ($\pm$ 14.2) であった。

b. リネン交換作業前および作業中から作業後に採取した空気サンプルの検査結果

合計 52 組、104 検体が回収され、16 検体から SARS-CoV-2 RNA が検出されたが、Ct 値は全て 36 以上でありウイルス分離の結果も陰性であった。リネン交換作業前(6 検体、11%) よりも作業中から作業後 (10 検体、18%) に高い頻度で SARS-CoV-2 RNA が検出されたが、統計的な有意差は認められなかった ($p=0.4187$)。病院 (作業前 7%、作業後 11%) よりも無症状陽性者収容施設 (作業前 17%、作業後 29%) で SARS-CoV-2 RNA 検出頻度が高かったが、統計的な有意差はなかった ($p=0.0596$)。リネン交換作業前の空気サンプルは陰性だったが作業中から作

業後に陽転化したものが 5 件、作業前よりも作業中から作業後の Ct 値が 1 以上上昇したものが 1 件確認された。

c. リネン交換作業後と鼻咽頭検体採取後の PPE からの SARS-CoV-2 RNA 検出結果

リネン交換作業後の検体は、各 PPE (N95 マスク、ゴーグル、ガウン上部、ガウン下部) ごとに 52 検体、合計 208 検体が回収された。鼻咽頭検体採取後の検体は、PPE (N95 マスク、ゴーグル、ガウン上部) ごとに 26 検体、合計 78 検体が回収された。リネン交換作業後の検体では、ガウン下部 5 検体 (10%) とガウン上部 1 検体 (2%) の合計 6 検体から SARS-CoV-2 RNA が検出されたが、N95 マスクとゴーグルからは検出されなかった。SARS-CoV-2 RNA が検出された 6 検体の Ct 値はいずれも 37 以上であり、ウイルス分離の結果も陰性であった。鼻咽頭検体採取後の検体からは SARS-CoV-2 RNA は検出されなかった。

D. 考察

本研究では、宿泊療養施設および病院に入院している SARS-CoV-2 陽性者を対象に、リネン類の交換作業によって生じる作業者の感染リスクを評価した。調査の結果、リネン類の交換作業中に作業者が着用していたガウンと空気サンプルの一部からウイルス RNA が検出されたが、いずれも Ct 値が高くウイルス分離結果も陰性であったため、リネン交換作業者の臨床的な感染リスクは低いと考えた。

Ct 値と感染伝播能力の関係については、これまでに複数の検討が行われている。Kim MC らと Jie Zhou らの報告によれば、それ

ぞれ Ct 値 30 を超える検体からのウイルス培養は困難であるとされており、Anika Singanayagam らの報告では、Ct 値が 35 を超える検体ではウイルス培養の成功確率が著しく低くなるとされている。さらに、複数の論文において、高い Ct 値の臨床的な解釈に関する議論が行われており、Ct 値 30 台後半のウイルス RNA 検出を感染伝播能力の根拠と判断することに否定的な意見が述べられている。我々の調査では、リネン交換作業後の PPE とリネン交換前後の空気サンプルからウイルス RNA が検出されたが、その Ct 値は空気サンプルで 36 以上、PPE は 37 以上であった。前述の先行研究の結果を考慮して、我々は、今回の調査でウイルス RNA が検出された使用後の PPE と周辺空気について、これらが感染伝播に寄与する可能性は極めて低いと判断した。

空気サンプルの検査結果により、リネン類の交換作業前後にウイルス RNA が空気中に浮遊することが確認された。また、統計的な有意差は認められなかったものの、ウイルス RNA が浮遊する頻度は作業前よりも作業中から作業後の方が高いことが観測された。作業者がリネン交換作業中に SARS-CoV-2 を吸入して感染するリスクについては、検出されたウイルス RNA の Ct 値が全て 36 以上であったことから、必ずしも高くないと考えられた。また、リネン交換作業後の PPE の検査結果において、SARS-CoV-2 陽性者が使用したリネンや周辺の環境表面に直接接触するガウンからウイルス RNA が検出されたが、顔面に着用する N95 マスクおよびゴーグルからは検出されなかった。以上を考慮すると、リネン交換作業によって空気感染リスクが生じる可能性は低いと考えられ

る。ただし、本研究の中で観測されることはなかったが、リネン交換作業中にシーツや Duvet cover などが作業者の顔面に触れる可能性を無視するべきではなく、交換作業中に SARS-CoV-2 陽性者から話しかけられる場面なども想定する必要がある。リネン交換作業者は、手袋とガウンに加え、サージカルマスクと眼の防護具を着用して、接触感染と飛沫感染を適切に予防する必要があると考える。

本研究にはいくつかの限界がある。まず、本研究は無症候陽性者と上気道感染兆候を主訴とする軽症者のみを対象としており、中等症以上の肺炎を伴う感染者については評価されていない。軽症者と中等症以上の感染者間の排ウイルス量に大きな差はないという報告はあるが、中等症以上の肺炎患者では高流量酸素投与や陽圧換気補助、吸引処置、気管内挿管処置など、ウイルスの拡散につながる医療処置が高頻度を実施される。これらの患者の療養環境におけるリネン交換作業者の感染リスクに関する検討は、別途計画されるべきである。

次に、試験デザイン上の限界として、本研究は、事前に検出力を設定してサンプルサイズ設計を行う検証デザインの臨床試験にはなっていないという問題がある。社会的な課題解決のために速やかに結果を示す必要があったこと、先行研究が極めて少なくサンプルサイズ設計に必要な事前情報が入手困難であったこと、計画段階から陽性検体が生じる頻度は低いと予想されており必要なサンプルサイズを通常の方法で算出すると実施可能性が損なわれてしまうことなどが主な理由である。本研究は探索的な研究と位置付けられるものであり、完全な仮

説検証のためには、さらに大規模な研究が必要となる。

最後の限界として、空気サンプリングについては、患者が室内に残っていたために、患者の呼気中のウイルスを測定していた可能性がある。ただし、リネン類の扱いの前後で検出が増えていたことから、実際に舞い上がるウイルス粒子が存在していたと考えられた。さらに、作業者が使用した N95 マスクの汚染調査では、器具の表面のみをふき取って検査しており、マスク内部のウイルス RNA は測定されていない。本研究の結果を解釈するうえで、以上の点を考慮する必要がある。

E. 結論

リネン類の交換作業中に作業者が着用していたガウンと空気サンプルの一部からもウイルス RNA が検出されたが、いずれも Ct 値が高くウイルス分離結果も陰性であったため、リネン交換作業者の臨床的な感染リスクは低いと判断した。

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