

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

衣類素材における感染性残存期間の解析に関する研究

研究分担者 花木 賢一 国立感染症研究所 安全実験管理部 部長

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

原田 俊彦 国立感染症研究所 安全実験管理部 研究員

研究要旨：新型コロナウイルス感染症（COVID-19）患者の内、無症状の場合には宿泊療養施設、有症状（軽症）の場合には病院へ入院措置が執られているが、それら患者が使用したリネン類を介した接触または飛沫感染による伝播が危惧されている。そこで、本研究では各種衣類素材にウイルスを接種し、その感染性の残存について経時的解析を行った。その結果、ウール 100%のような撥水性素材で感染性ウイルスが数日に亘って残存したが、綿 100%や麻 100%のような吸水性素材ではウイルス接種直後から感染性ウイルスを検出することができなかった。そのため、リネン類は吸水性の良い綿 100%のような素材を使用することで、それらを介した感染リスクを下げる可以考虑と考えられた。

A. 研究目的

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）患者が使用したリネン類等の取扱いは、『新型コロナウイルス感染症の軽症者等の宿泊療養マニュアル』の送付について」（令和 2 年 4 月 2 日厚生労働省新型コロナウイルス感染症対策推進本部事務連絡）等において、体液で汚れていない場合は一般的な家庭用洗剤等で洗濯し、完全に乾かす対応で差し支えなく、体液で汚れたリネンについては、熱湯消毒または 0.1%次亜塩素酸ナトリウムにより消毒を行うこととしている。一方、感染者が宿泊療養施設等において使用したリネン類は、体液による汚染度の判断が困難であること、リネン類等

に付着した新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の感染性やウイルスが不活化するまでの期間の知見が不十分であること等を理由に廃棄されている。また、新型コロナウイルスは感染者が発症する数日より排出されることが知られており、それにより様々な素材の衣類に新型コロナウイルスが付着し、クリーニング所等でそれらを介した接触または飛沫感染の発生が危惧される。加えて、クリーニング所等で取り扱われる多様な素材でできている衣類における新型コロナウイルスの感染性やウイルスが不活化するまでの期間について十分な知見が得られていない。そこで、本研究では様々な衣類素材に新型コロナウイルスを

接種し、その感染性の残存を経時的に解析する。それにより、新型コロナウイルス感染者が滞在する宿泊療養施設と軽症のために入院する病院、及びクリーニング所等において、リネン類を取り扱う際の感染対策を講じる際の参考となる知見を提供することを目的とする。

B. 研究方法

a. 衣類素材へのウイルス接種実験

対象素材は市販の生地 16 種：綿 100%、綿 100%・デニム、綿 100%・フェルト、麻 100%、絹 100%、ウール 100%、レーヨン 100%、キュプラ 100%、ポリエステル 100%、ポリエステル 100%・サテン、ナイロン 100%、コーデュロイ、フェイクファー、合成皮革、牛革ヌメ、牛革スエードを選定した。はじめに、フェイクファー、合成皮革、牛革ヌメ、牛革スエードを除く素材は家庭用洗濯洗剤を用いたドラム式洗濯機の標準洗濯モードで一度洗った。各生地は穴あけパンチで小片を作成し、24 ウェルプレートへ入れた。次に、ウイルス液 (1.0×10^5 TCID₅₀/ml ; 2% FBS 加 DMEM) を生地へ 10 μ l 接種して環境試験器 SH-222 (Espec) で温度 20℃、相対湿度 40%一定で 3, 9, 24, 48, 72 時間静置した。また、ウイルス接種直後を 0 時間として、ウイルスの回収を行った。生地からウイルスを回収するために、小片を使い捨てピンセットで遠心式フィルターユニット Ultrafree-MC (0.22 μ m ; Millipore) へ移し、2%ウシ胎子血清 (FBS) 加 DMEM を 500 μ l 加えて 30 回ピペッティングを行った後に室温 5 分間静置し、12,000 $\times$ g、4

分遠心して滅菌ろ過したウイルス液を得た。その内、200 μ l は 96 ウェルプレートへ接種した Vero E6/TMPRSS2 細胞 (2%FBS 加 DMEM) に接種し、37℃, 5% CO₂ 下で 3 日間培養して細胞変性効果 (CPE) の有無により感染性ウイルスの残存を判定した。

b. リアルタイム RT-PCR 解析

衣類素材にウイルスを接種して回収したウイルス液 200 μ l は、High Pure Viral RNA Kit (Roche) によりウイルス RNA を 50 μ l 溶液に抽出し、リアルタイム RT-PCR 解析は 3 μ l の抽出 RNA を鋳型として SARS-CoV-2 Detection Kit, N2 set (Toyobo) を用いて行った。反応は LightCycler Nano (Roche) を使用し、42℃10 分の逆転写反応の後、95℃15 分変性させた。続いて、(95℃10 秒, 55℃15 秒, 60℃20 秒) $\times$ 45 サイクルの増幅・検出を行った。

C. 研究結果

16 種の衣類素材にウイルスを接種し、経時的な感染性ウイルスの残存について確認試験を行った。試験は再現性を担保するため、N=2 で 3 回行った。結果を表 1 に示す。なお、表中の素材名に付した上付き数字はウイルス液を素材へ接種した直後の動態の分類で、1：速やかに浸透、2：撥水、3：撥水状態の後に浸透、4：速やかに浸透または撥水状態の後に浸透したことを示す。

表 1 衣類素材における感染性ウイルスの残存 (N=6)

素材\時間 (h)	0	3	9	24	48	72
綿100% ¹	0	0	0	0	0	0
綿100%デニム ¹	2	0	1	0	0	0

綿100%フェルト ¹	5	1	1	0	0	0
麻100% ¹	0	0	0	0	0	0
絹100% ¹	1	1	1	0	0	0
ウール100% ²	6	6	5	5	6	3
レーヨン100% ¹	3	0	0	0	0	0
キュプラ100% ⁴	0	0	0	0	0	0
ポリエステル100% ¹	1	0	1	0	0	0
同上・サテン ¹	5	2	0	0	0	0
ナイロン100% ²	6	5	1	0	2	0
コーデュロイ ¹	0	0	0	0	0	0
フェイクファー ²	6	6	6	4	5	6
合成皮革 ²	6	6	6	3	0	0
牛革ヌメ ³	0	0	0	0	0	0
牛革スエード ³	0	0	0	0	0	0

撥水性のウール 100%、フェイクファー、合皮では 9 時間後まではほぼすべてのサンプルで感染性の残存を認めた。特にウール 100%とフェイクファーでは 72 時間後も感染性の残存を認めたため、さらに長時間での感染性の残存を調べた (N=2)。その結果、ウール 100%では 5 日目 (陽性:1/2) まで、フェイクファーでは 6 日目 (陽性:2/2) まで感染性の残存が確認された。ナイロン 100%もまた撥水性であったが、9 時間後にはほぼ感染性が認められなくなった。その他の素材は程度の差はあるが浸透性 (=吸水性) であり、3 時間後には感染性が認められなくなった。その内、綿 100%、麻 100%、キュプラ 100%、コーデュロイ、牛革ヌメ、牛革スエードはウイルス接種直後であっても感染性が認められなかった。そこで、すべての素材についてウイルス接種直後にウ

イルスを回収し、リアルタイム RT-PCR 解析を行って Ct 値によるウイルスゲノム量の相対比較を行った。結果を表 2 に示す。ただし、16 素材の中でフェイクファー、牛革ヌメ、牛革スエードは N=2 のため標準偏差は算出せず、カッコ内に実測値を示した。斜体で記載した素材は半数以上 ($\geq 2/4$) で感染性が認められたもので、Ct ≤ 33.5 の場合に CPE を認め、Ct >33.5 の場合に CPE を認めなかった。従って、感染性の残存と Ct 値の間で関係性が認められた。そして、表 1 で感染性ウイルスが全く分離できなかった (0/6) 素材: 綿 100%、麻 100%、キュプラ 100%、牛革ヌメ、牛革スエードでは平均 Ct 値 >35 、一方、感染性ウイルスが 100%分離できた (6/6) 素材: ウール 100%、ナイロン 100%、フェイクファー、合成皮革では平均 Ct 値 ≤ 32.5 であった。

表 2 衣類素材におけるウイルス接種直後 (0 時間) に回収したウイルス液の Ct 値

衣類素材	平均Ct値 ± 標準偏差 (N=4)
綿100%	35.4 ± 1.8
綿100%デニム	31.7 ± 0.5
綿100%フェルト	31.8 ± 0.5
麻100%	36.3 ± 0.5
絹100%	34.0 ± 0.3
ウール100%	31.5 ± 0.4
レーヨン100%	35.7 ± 1.5
キュプラ100%	35.6 ± 1.4
ポリエステル100%	33.3 ± 0.9
同上・サテン	33.6 ± 0.93
ナイロン100%	32.5 ± 0.9

コーデュロイ	40.8 ± 2.0
フェイクファー	32.2 (32.16, 32.26)
合成皮革	31.1 ± 1.0
牛革スメ	35.6 (36.05, 35.18)
牛革スエード	40.4 (40.48, 40.22)

D. 考察

本研究では衣類素材に付着した新型コロナウイルスがどの程度の期間、感染性を保持するかについて調べるため、感染価測定並びにリアルタイム RT-PCR 解析を行った。衣類素材へのウイルス接種量により結果が変わることが予想されたが、リネン等から回収できるウイルス RNA 量が $Ct \geq 33$ とウイルス分離が困難な水準であることを考慮し、 1.0×10^3 TCID₅₀ を衣類素材へ接種した。この量は新型コロナウイルスがガラスの表面に 28 日以上感染性を保持すると発表した論文 [Riddell S, et al. Virol J. 2020. 17: 145] で使用された接種量 (3.38×10^5 TCID₅₀) の 1/100 量未満であるが、重症患者に比べて軽症患者の鼻咽頭スワブのウイルス量は平均 1/60 であったとする論文 [Liu Y, et al. 2020. Lancet Infect Dis. 20: 656- 657] もあり、無症状から軽症状の感染者の衣類の新型コロナウイルス汚染実態をより反映していると考えた。そして、本検討により衣類素材によりウイルスの感染性残存に差違があることが明らかになった。特徴的なこととして、ガラスやプラスチックと同様に撥水性を示す衣類素材でウイルスは長時間感染性の残存を認めたことである。一方、綿 100% や麻 100% の生地のように接種直後からウイルスの感染性を認めない衣類素

材もあった。これら素材には積極的にウイルスを不活化させる処理が施されていないため、接種したウイルスが適正に回収できているかウイルス RNA 量で確認するためにリアルタイム RT-PCR 解析を行った。その結果、撥水性の素材に比べてウイルス回収が劣る (Ct 値で約 3 大きい) ことが明らかになった。SARS コロナウイルスを用いた類似の研究論文では、綿 100% で速やかにウイルス感染価を測定できなくなる理由として、ウイルスが乾燥して不活化されたという考察を行っている [Lai MY, et al. 2005. Clin Infect Dis. 41: e67- e71]。しかし、本研究結果からは、線維に付着または吸着したウイルスが回収できなかったことにより、感染性が喪失したようにみえただけと考えられた。そして、新型コロナウイルス感染者の使用したフェイスタオルとバスタオルからウイルス RNA の検出率が低かった理由もまた、それらの素材が綿 100% であり、付着したウイルスがスワブに回収できなかったためと推察された。以上のことから、感染者周りのリネン類に綿 100%、麻 100%、キュプラ 100% のような吸水性の良いものを用いると、リネン類を介した接触または飛沫感染のリスクを低下できることが期待される。ただし、それら素材に柔軟剤処理や糊づけした場合の影響は検討していないことには留意する必要がある。

撥水性のある衣類素材では、ガラスやプラスチックへ付着させた新型コロナウイルスと同様に 5 日以上感染性の残存が認められた。新型コロナウイルスは乾燥状態よりも培地中で感染性が長く保持されることが

報告されているが [Chan KH, et al. 2020. J Hosp Infect. 106: 226- 231]、同じ条件下（温度 20℃，相対湿度 40%）で乾燥状態に静置していても、浸透性の綿 100%生地と撥水性のウール 100%生地とではウイルスの感染性の残存に顕著な差違がみられた。これは単にウイルスの置かれている温湿度環境だけでは説明できない。しかし、接種材料となるウイルス液にはウイルスを安定化させる蛋白質が含まれており、Lai らは 1 mg/ml BSA、Chan らは 1% FBS、本研究では 2% FBS を含むウイルス液を使用していた。そして、撥水性の基材にウイルス液を接種すると、徐々に BSA または FBS の濃縮が起こってウイルスを保護するように乾燥固化する。それにより浸透性の基材に接種したウイルスよりも長時間感染性が保持されるのではないかと考えられる。従って、呼気や唾液とともに排出されて衣類へ付着した新型コロナウイルスの感染性残存が適正に反映されているか疑問が残り、そのことを解消するためには生理食塩水または唾液へスパイクした新型コロナウイルスを用いて撥水性の衣類素材における感染性残存を検討する必要がある、今後の検討課題として残った。

E. 結論

衣類素材では撥水性の高いもので新型コロナウイルスの感染性が数日に亘って残存するが、吸水性の衣類素材では新型コロナウイルスが素材に吸着されて離れない、その後、乾燥によって死滅すると考えられた。そのため、リネン類においても吸

水性の良い素材のものを使用することで、リネン類を介した接触または飛沫感染のリスクを低下できることが期待された。

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