

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：24303
研究種目：若手研究
研究期間：2021～2023
課題番号：21K16326
研究課題名（和文）感染制御法構築を目指した病原体生存因子の解明

研究課題名（英文）Elucidation of pathogen survival factors

研究代表者

廣瀬 亮平（Ryohei, Hirose）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・助教

研究者番号：50795383

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：研究1年目の2021年は、新型コロナウイルスやインフルエンザウイルスにおける皮膚上の消毒効果の正確な評価を行った。研究2年目の2022年は、ウイルス（ヒトコロナウイルス・新型コロナウイルス・インフルエンザウイルスなど）に対する残留消毒効果の解析を行った。これらのデータに基づき、研究3年目の2023年は黄色ブドウ球菌（MRSAも含む）、大腸菌（O-157などの腸管出血性大腸菌も含む）、セラチア菌などのバクテリアに対する残留消毒効果の評価系構築を行った。最終的に本研究では、ウイルスおよびバクテリアを対象とした生存に適していない皮膚環境の創出方法のベースとなるデータ採取を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

実使用条件を忠実に再現した消毒効果評価試験を確立した。この試験に基づき開発・承認された新規消毒薬や消毒方法は、実際の使用条件においても十分効果を発揮し実使用での効果との乖離は消失する。手指衛生・接触感染予防の進歩に大きく貢献する。

加えて、病原体が長期生存しにくい皮膚表面環境つまり接触感染に強い皮膚表面環境の創出技術を構築した。Super Spreader等の皮膚上の病原体不活化因子の少ない個人に対して、病原体が生存しにくい皮膚表面環境を創出できる方法を構築する。手洗い・手指消毒の前段階となる革新的な手指衛生法として、病原体が生存しにくい皮膚環境の創出は斬新かつ有効な予防手段となる。

研究成果の概要（英文）：In 2021 (first year of research), we evaluated the disinfection effect against coronaviruses and influenza viruses on the human skin surface. In 2022 (second year of research), we evaluated the residual disinfection effect against viruses (coronaviruses and influenza viruses, etc.) on the human skin surface. In 2023 (third year of research), we constructed an evaluation model for the residual disinfection effect against *Staphylococcus aureus*, including MRSA, *Escherichia coli*, including enterohemorrhagic *E. coli*, and *Serratia marcescens*. Finally, this study collected the data necessary to develop a method for creating a skin environment that is not suitable for survival for viruses and bacteria.

研究分野：感染制御

キーワード：感染制御 環境消毒 残留消毒効果

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

感染症拡大の完全な制御は現状では不可能であり、多大な人的・経済的損害をもたらしている。接触や飛沫感染制御は社会全体にとって極めて重要な課題である。一方で、接触・飛沫感染成立の機序は不明な部分も多い。

下記のように接触感染の完全な制御は達成されていないため、現状では季節性インフルエンザや COVID-19 などの感染症拡大を完全にコントロールすることは出来ず、多大な人的・経済的損害が生じている。日常生活で実践可能な現行より有効な感染制御方法の開発およびそれに必要なエビデンスの構築が必要である。

身の回りの物体表面に病原体が付着した時にどの物体表面が感染のリスクが高いのか、そのリスクはいつまで続くのか、に関しては不明である。また感染リスクの低い(病原体が長時間生存できない)表面の創出技術は現段階ではまだ完成されていない(各表面上での病原体の生存時間が異なる理由はまだ明らかになっていない)。

ヒト皮膚上での病原体生存時間や消毒効果のデータは、有効な接触感染対策を構築するうえで極めて重要である。一方で、危険性の高い病原体を皮膚に塗布したり被験者を長時間拘束する研究は、被験者の侵襲が高く実施できないため、これらのデータ取得は困難である。また皮膚上での病原体の生存時間は個人差があることが申請者らの研究でも明らかにされてきたが、皮膚上のどの因子が病原体生存に影響を与えているかは不明なままである。皮膚表面で病原体が長時間生存する個人は周囲に病原体を伝播するリスクが高く Super Spreader として注意を払う必要があるが、現段階では皮膚表面のデータから Super Spreader を同定する方法は確立していない。

同様に感染性体液中の病原体の生存時間も個人差があることが明らかにされてきたが、どの因子が病原体生存に影響を与えているかは不明であり、現段階では体液からの Super Spreader の同定方法は確立していない。

「病原体がおかれている状況を忠実に再現した条件での正確な病原体安定性・消毒効果評価法」は構築されておらず、接触感染を確実に制御できる(エビデンスのある)手指衛生・環境消毒の方法は確立されていない。

2. 研究の目的

申請者は、病原体の生存は病原体そのものの耐久性だけでなく、病原体が存在する感染性体液、感染性体液粒子が付着する物体表面の物理的・化学的特性が大きく影響している可能性を指摘している。本研究ではこれらの物理的・化学的特性を再現した評価系により病原体生存に関わる因子を解明し、新しい感染制御法構築の基盤となるデータ取得を目指した。

3. 研究の方法

最初に、日常的に存在する物体(金属・ガラス・樹脂など)の表面上での病原体の安定性評価を行う。具体的には、各物体の表面性状を解析し、各種環境条件を温度湿度管理インキュベーター

で再現したうえで、各表面上の病原体生存を評価する。[先行解析]

次に、ヒト皮膚における物理的・化学的特性（pH・水分・油脂分・弾性など）を評価したうえで、法医解剖にて得られる剖検体皮膚を用いてヒト皮膚の物理化学的特性を再現した ex vivo 皮膚モデル(病原体安定性・消毒効果評価モデル)を構築する。

次に、皮膚表面上の病原体に対する安定性および消毒効果評価する。具体的には、上記で構築した皮膚モデルを用いて皮膚上に存在する病原体の安定性および消毒効果評価を行い、消毒効果を決定する全因子を同定する。さらに、各個人の皮膚表面における病原体生存決定因子の評価を行う。

最後に病原体の生存しにくい皮膚表面環境の創出技術の構築を行う。具体的には、残留消毒効果評価モデルを構築し、手指衛生に使用される消毒薬の残留消毒効果を評価することで、強い消毒効果と残留消毒効果を併せ持つ既存消毒薬を特定する。対象病原体は、Influenza virus, Coronavirus, Adenovirus, Norovirus (Feline calicivirus), Escherichia coli (O-157 も含む), Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens, Clostridium difficile, Campylobacter jejuni, Salmonella enterica 等、接触感染を起こしうる細菌・ウイルスとする。

4 . 研究成果

研究1年目

新型コロナウイルスやインフルエンザウイルスにおける皮膚上の消毒効果の正確な評価を行った。さらに新型コロナウイルス・ヒトコロナウイルス・インフルエンザウイルスの生存に適していない皮膚環境の創出方法を現在構築している。具体的には実際の手指衛生の状況に近い条件での新型コロナウイルスおよびインフルエンザウイルスに対する消毒効果評価を実現した。ヒト皮膚表面上の新型コロナウイルスは、濃度が4.0w/w% (4.8v/v%)以上のエタノール消毒薬による5秒間の消毒により検出感度以下まで不活化されることを明らかにした。さらにエタノール消毒薬より効力が劣るといわれているグルコン酸クロルヘキシジンや塩化ベンザルコニウムの新型コロナウイルスに対する消毒効果を評価した。グルコン酸クロルヘキシジンや塩化ベンザルコニウムの消毒効果はエタノール消毒薬に比して明らかに劣っていた。一方で、比較的高濃度のグルコン酸クロルヘキシジン(1.0w/v%)や塩化ベンザルコニウム(0.2w/v%)は、ヒト皮膚表面上の新型コロナウイルスに対してやや強い消毒効果を示すことが確認された。

研究2年目

次に示すようにウイルスに対する残留消毒効果の解析を行った。まず、手指衛生に使用される消毒薬を手塗布して乾燥した後も消毒効果が残存する(残留消毒効果がある)か、正確に評価できるモデルを構築し、手指衛生に使用される消毒薬の残留消毒効果を評価した。その結果、エタノールやイソプロパノールなどのアルコール系消毒薬には残留消毒効果がほとんど認められなかった。一方でグルコン酸クロルヘキシジン・塩化ベンザルコニウムなどの消毒薬には残留消毒効果が認められた。また、比較的高濃度である0.2%塩化ベンザルコニウムは特に強い残留消毒効果を示し、新型コロナウイルス、ヒトコロナウイルス、インフルエンザウイルスの生存時間を、それぞれ665分から5分(1%未満)、1285分から12分(1%未満)、121分から4分(3%)に短縮し、この強い残留消毒効果は皮膚に塗布した後、長時間(4時間程度)にわたり維持された。以上のように、強い残留消毒効果を持つ消毒剤を皮膚に塗布することで、ウイルスが生存しにく

い皮膚表面を創出することができ、現行の手指衛生を強力にサポートする革新的な接触感染予防法となることが明らかになった。さらに新型コロナウイルスの初期株(武漢株)と5種類の懸念される変異株(アルファ、ベータ、ガンマ、デルタ、オミクロン型)における環境安定性およびエタノールによる消毒効果の違いを明らかにした。

研究3年目(延長期間)

黄色ブドウ球菌(MRSAも含む)、大腸菌(O-157などの腸管出血性大腸菌も含む)、セラチア菌などのバクテリアに対する残留消毒効果の評価系構築を行った。ウイルスと同様に、エタノールやイソプロパノールなどのアルコール系消毒薬にはバクテリアに対する残留消毒効果がほとんど認められなかった。一方でグルコン酸クロルヘキシジン・塩化ベンザルコニウム・ポピドンヨードなどの消毒薬には強い残留消毒効果が認められ、バクテリアの皮膚上での生存時間を大幅に短縮させた。またこの残留消毒効果は、皮膚に塗布してから4時間以上経過した後も維持されることを確認した。以上のように、強い残留消毒効果を持つ消毒剤を皮膚に塗布することで、バクテリアが生存しにくい皮膚表面を創出することができ、現行の手指衛生を強力にサポートする革新的な接触感染予防法となりえることが明らかになった。

[研究期間中の本研究に関する執筆論文]

Hirose R*, Itoh Y, Ikegaya H, Miyazaki H, Watanabe N, Yoshida T, Bandou R, Daidoji T, Nakaya T. Evaluation of the residual disinfection effects of commonly used skin disinfectants against viruses: An innovative contact transmission control method. *Environmental Science & Technology*. 2021;55(23):16044-16055.

Hirose R*, Itoh Y, Ikegaya H, Miyazaki H, Watanabe N, Yoshida T, Bandou R, Daidoji T, Nakaya T. Differences in environmental stability among SARS-CoV-2 variants of concern: Both Omicron BA.1 and BA.2 have higher stability. *Clinical microbiology and infection*. 2022;28(11):1486-1491.

Bandou R, Hirose R*, Nakaya T, Itoh Y, Miyazaki H, Watanabe N, Yoshida T, Daidoji T, Itoh Y, Ikegaya H. Avian influenza virus stability and disinfectant efficacy on human skin: Higher stability and ethanol resistance of H5N1. *Emerging Infectious Diseases*. 2022;28(3),639-649.

Hirose R*, Miyazaki H, Bandou R, Watanabe N, Yoshida T, Daidoji T, Itoh Y, Nakaya T. Stability of SARS-CoV-2 and influenza virus varies across different paper types. *Journal of infection and chemotherapy*. 2022;28(2):252-256.

Miyazaki H, Hirose R*, Ichikawa M, Mukai H, Yamauchi K, Nakaya T, Itoh Y. Methods for virus recovery from environmental surfaces to monitor infectious viral contamination. *Environment International*. 2023: 180: 108199.

Watanabe N, Hirose R*, Yamauchi K, Miyazaki H, Bandou R, Yoshida T, Doi T, Inoue K, Dohi O, Yoshida N, Uchiyama K, Ishikawa T, Takagi T, Konishi H, Ikegaya H, Nakaya T, Itoh Y. Evaluation of Environmental Stability and Disinfectant Effectiveness for Human Coronavirus OC43 on Human Skin Surface. *Microbiology Spectrum*. 2023;11(2):e0238122.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hirose Ryohei, Itoh Yoshito, Ikegaya Hiroshi, Miyazaki Hajime, Watanabe Naoto, Yoshida Takuma, Bandou Risa, Daidoji Tomo, Nakaya Takaaki	4. 巻 28
2. 論文標題 Differences in environmental stability among SARS-CoV-2 variants of concern: both omicron BA.1 and BA.2 have higher stability	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clinical Microbiology and Infection	6. 最初と最後の頁 1486 ~ 1491
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cmi.2022.05.020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hirose Ryohei, Itoh Yoshito, Ikegaya Hiroshi, Miyazaki Hajime, Watanabe Naoto, Yoshida Takuma, Bandou Risa, Daidoji Tomo, Nakaya Takaaki	4. 巻 55
2. 論文標題 Evaluation of the Residual Disinfection Effects of Commonly Used Skin Disinfectants against Viruses: An Innovative Contact Transmission Control Method	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Environmental Science & Technology	6. 最初と最後の頁 16044 ~ 16055
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.est.1c05296	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hirose Ryohei, Miyazaki Hajime, Bandou Risa, Watanabe Naoto, Yoshida Takuma, Daidoji Tomo, Itoh Yoshito, Nakaya Takaaki	4. 巻 28
2. 論文標題 Stability of SARS-CoV-2 and influenza virus varies across different paper types	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 252 ~ 256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2021.11.006	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Bandou Risa, Hirose Ryohei, Nakaya Takaaki, Miyazaki Hajime, Watanabe Naoto, Yoshida Takuma, Daidoji Tomo, Itoh Yoshito, Ikegaya Hiroshi	4. 巻 28
2. 論文標題 Higher Viral Stability and Ethanol Resistance of Avian Influenza A(H5N1) Virus on Human Skin	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Emerging Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 639 ~ 649
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3201/eid2803.211752	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Hajime, Hirose Ryohei, Ichikawa Mikako, Mukai Hiroki, Yamauchi Katsuma, Nakaya Takaaki, Itoh Yoshito	4. 巻 180
2. 論文標題 Methods for virus recovery from environmental surfaces to monitor infectious viral contamination	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Environment International	6. 最初と最後の頁 108199 ~ 108199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envint.2023.108199	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Watanabe Naoto, Hirose Ryohei, Yamauchi Katsuma, Miyazaki Hajime, Bandou Risa, Yoshida Takuma, Doi Toshifumi, Inoue Ken, Dohi Osamu, Yoshida Naohisa, Uchiyama Kazuhiko, Ishikawa Takeshi, Takagi Tomohisa, Konishi Hideyuki, Ikegaya Hiroshi, Nakaya Takaaki, Itoh Yoshito	4. 巻 11
2. 論文標題 Evaluation of Environmental Stability and Disinfectant Effectiveness for Human Coronavirus OC43 on Human Skin Surface	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbiology Spectrum	6. 最初と最後の頁 e02381-22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/spectrum.02381-22	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------