バクテリオファージを用いたウイルス洗浄評価用インジケータの開発

島田太一¹、倉本恭行¹、渡辺嘉²、○山内朝夫² (¹太平化学産業(株)、²(地独)大阪産業技術研究所)

[目的]

販売スペースや調理場には、様々なウイルスが持ち込まれている。感染を阻止するために汚染箇所のふき取りや洗浄が必要であるが、目に見えないウイルスの汚染状況を把握することは難しい。また、除去にはウイルスのタイプに適合する洗浄剤が必要である。これらを解決する手段として、本研究ではヒトに感染しないバクテリオファージをウイルスの代替に用いたインジケータを開発する。これまでに、医療現場で問題となっている B型肝炎ウイルスについて、同じ外殻膜形質(エンベロープタイプ)の ϕ 6ファージを金属板に塗布したインジケータを作製し、その有効性を明らかにしている $^{1)}$ 。今回、ノンエンベロープタイプの Q8ファージを塗布したインジケータを作製したので報告する。

〔方法〕

インジケータは、牛血清アルブミンを含むファージ液をステンレス板(SUS304)表面に 1.5 cm×5.0 cm の範囲で塗り付け風乾したものとした。インジケータの洗浄は試験液中にインジケータを浸漬する方法、ガーゼを装着した摩擦試験機を用いて拭き取る方法、スプレー散布後に拭き取る方法の 3 種で行った。洗浄後、インジケータに残存するファージを綿棒で回収し 1.0 mL の SCDLP 培地(レシチンとポリソルベート含有、栄研化学社製)に懸濁した。懸濁液中のファージ濃度をプラーク形成法で計測し、対照として純水によるインジケータの洗浄操作で得られるファージ濃度からの対数減少値を洗浄度とした。なお、試験液は試薬品の界面活性剤のほか、市販品(タイフレッシュ・エース NEO II、タイフレッシュ・ミスト・プラス、タイフレッシュ・ウェットワイパー:太平化学産業)を用いた。

[結果]

まず、試験液として予め $Q\beta$ が失活すると分かっている塩化ベンザルコニウムと失活しない TritonX-100 を使用して浸漬洗浄した。洗浄前のインジケータには濃度が 10^{12} PFU/mL のファージが存在し、水に浸漬すると 10^{11} PFU/mL 残存していた。TritonX-100 で洗浄しても、水と同程度の残存ファージ濃度であった(洗浄度、-0.8)が、塩化ベンザルコニウムで洗浄すると 10^3 PFU/mL まで減少し、洗浄度が 8.4 となった。試験液の種類で異なる洗浄度が検出されたことから、本インジケータは洗浄剤開発における薬剤スクリーニングに利用できる。

次に、本インジケータは同一試験液による洗浄方法の違いで、洗浄度が異なることも明らかにできた。洗浄度は浸漬洗浄法が最も高く、順に試験液を含侵したガーゼによる拭き取り方法スプレー後に乾いたガーゼで拭き取る方法で低下した(洗浄度はそれぞれ、5.1、3.2、1.8)。先に開発した $Q\beta$ と異なる ϕ 6 ファージを塗布したインジケータについても試験液の種類や洗浄方法の違いが確認でき、 $Q\beta$ と ϕ 6 のインジケータで洗浄度が異なることを明らかにできた。以上のことは、本インジケータを用いることでウイルスの外殻膜形質に拘らずに用途に見合った洗浄剤が開発できるだけでなく、インジケータを実環境に設置することでウイルスの洗浄・汚染状況を把握できる手段として衛生面でも応用できることを示している。

〔文献〕

1) 島田ら:日本防菌防黴学会第51回年次大会要旨集, p. 58 (2024)