

Real-time PCR 法を用いたアデノウイルスに対する 消毒薬の評価

学位論文内容の要旨

ヒトアデノウイルス (human adenovirus, HAdV) は 51 種類の血清型に分けられる。HAdV 感染症は呼吸器、消化器、眼などに多様な症状を示す。特に HAdV-3, -4, -7, -8, -11, -19, -37 の 7 種の血清型は結膜炎起因の主要な血清型として知られ、世界各地でウイルス性結膜炎の流行を引き起こしている。HAdV は時に院内感染を引き起こし、手指や眼圧計チップなどの医療器具が感染拡大の原因と考えられている。

これまでも HAdV に対する消毒薬の効果について報告があったが、それらはプラーク法や細胞変性効果 (cytopathic effect, CPE) を用いた検討のため、増殖が遅い HAdV 血清型ではプラークや CPE の検出が困難である。また HAdV の感染価が低い場合は、プラークや CPE が検出されず、消毒効果を適切に評価ができない。Real-time polymerase chain reaction (PCR) 法は、定量的に DNA copy 数を算出することが可能であり、Real-time PCR 法を用いた定量的な方法は客観的に評価する点で有益な手段であると考えられる。そこで、本研究では real-time PCR 法を用いて、臨床の場で用いられることが多いエタノール、ポビドンヨード、次亜塩素酸ナトリウムの HAdV に対する消毒効果を検討した。

エタノールは 1 分、3 分、5 分の消毒時間では HAdV への消毒効果はみられず、10 分以上の消毒時間が必要であることが示唆された。エタノールのみで手指に付着した HAdV を消毒するには比較的長時間の消毒が必要と考えられる。現在臨床で用いられている速乾性のエタノールを使用する場合も、消毒時間が短いために HAdV の消毒効果は低いと考えられるための流水での手指の洗浄を併用する必要があると考えられる。

ポビドンヨードはポリビニルピロリドンにヨウ素を結合させたものであり、5% 濃度では HAdV-3, -4, -19, -37 に対して 30 分以上の消毒時間が必要であり、HAdV-8 に関しては 60 分でも消毒効果はみられなかった。1% 濃度では、HAdV-4 では 1 分、HAdV-3, -8, -19, -37 では 3 分で消毒効果がみられた。0.2% 濃度では、HAdV-3, -4, -19, -37 では 1 分、HAdV-8 では 3 分で消毒効果がみられた。5% 濃度よりも低濃度の 1% および 0.2% 濃度で短時間で消毒効果がみられ、濃度相関性はみられなかった。また、同じ濃度のポビドンヨードでも HAdV の血清型によって消毒に必要な時間が異なり、血清型による感受性の違いがみられた。希釈された低濃度のポビドンヨードは、温度、光に対して不安定で長期間保存は困難であるため、使用直前に希釈液を作製して用いるのが望ましいと思われる。

次亜塩素酸ナトリウムは、0.1% および 0.05% の濃度 15 秒の処理で HAdV DNA copy 数の減少がみられ、短時間で HAdV の消毒が可能であると考えられる。次亜塩素酸ナトリウムは金属腐食性があるため金属製の医療器具の消毒には用いることができない。また皮膚に対する刺激性があるため、人体に用いることは困難である。しかしながら、腐食性の少ない非金属製の机など、環境への利用には短時間で HAdV の消毒が期待できると思われた。

このように HAdV に対する消毒薬の消毒効果を Real-time PCR 法を用いて検討した結果、それぞれの消毒薬には効果を示す濃度や消毒時間に違いがあることがわかった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 大 野 重 昭

副 査 教 授 小 野 江 和 則

副 査 教 授 上 出 利 光

学 位 論 文 題 名

Real-time PCR 法を用いたアデノウイルスに対する 消毒薬の評価

ヒトアデノウイルス (human adenovirus, HAdV) は 51 種類の血清型に分けられ、呼吸器、消化器、眼などに多彩な症状を示す。特に HAdV-3, -4, -8, -19, -37 の血清型は結膜炎起因の主要な血清型として知られている。これらの血清型は時に院内感染を引き起こし、手指や眼圧計チップなどの医療器具が感染拡大の原因と考えられている。

Real-time polymerase chain reaction (PCR) 法は、定量的に DNA copy 数を算出することが可能であり、本研究では real-time PCR 法を用いて、エタノール、ポビドンヨード、次亜塩素酸ナトリウムの HAdV に対する消毒効果を検討した。その結果、エタノールでは 80%濃度で 10 分の消毒時間が必要であり、環境や金属、非金属製の器具の消毒に有効と考えられた。ポビドンヨードは 1% または 0.2%濃度 3 分の消毒時間が必要であり、エタノールよりも消毒時間が短くて済むため手指の消毒に有用と考えられた。次亜塩素酸ナトリウムは 0.1% または 0.05%濃度 15 秒の消毒時間が必要であり、室内などの環境や、非金属製の器具の消毒に有効と考えられた。それぞれの消毒薬には効果を示す濃度や消毒時間に違いがあることがわかり、消毒の際には適応を選び消毒をすることによって HAdV の感染拡大を未然に防ぐことが大切である。

審査にあたっては、副査小野江和則教授から (1) ポビドンヨードの濃度逆相関性の理由についての質問があり、ポビドンヨードは希釈されたり熱や光で分解されることによって、消毒効果をもつ遊離ヨウ素濃度が高まるため消毒効果が高くなると回答した。(2) 40%濃度エタノールが HAdV-4 に対して効きにくいことについて質問があり、40%濃度エタノールでは、30 分では HAdV-4 の消毒効果がみられず、60 分の消毒時間が必要なことから消毒の際には濃度と消毒時間の注意が必要であると回答した。一方、副査上出利光教授からは (1) ヘキソンやファイバーで消毒薬の有効性が変わることについて質問があり、ヒトアデノウイルスは血清型によってヘキソンやファイバーに関連するタンパク質が異なるために、タンパク質に作用するポビドンヨードでは血清型によって感受性が異なると回答した。(2) インテグリン抗体を用いたアデノウイルスに対する治療についてのコメントがあり、今後インテグリン抗体を用いたアデノウイルスの治療薬や消毒薬の発展が期待された。また、主査大野重昭教授からは (1) ポビドンヨードの濃度がさらに低下した場合の消毒効果についての質問があり、希釈された場合遊離ヨウ素濃度が高まるある濃度までは消毒効果が高くなり、そこからさらに希釈された場合には消毒効果が低くなる可能性があるという回答

した。(2) 手指を手洗いする前後でのアデノウイルスの量についての質問があり、本研究では手洗い前後での検討は行っていないが、手洗いを行うことによってアデノウイルスの量は減少し消毒効果が高まるというこれまでの文献報告を挙げ、手指の消毒の際には手洗いを併用する必要があると回答した。

この論文は、ヒトアデノウイルスに対する消毒薬の効果を Real-time PCR 法を用いて報告し、消毒の適応について述べている点で高く評価され、今後臨床現場での感染拡大防止に大きく寄与するものと期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。