

マイクロファイバークロスによる ウイルス除去に関する検討

東 條 圭 一¹⁾ 野 島 康 弘²⁾ 佐下橋 伸 寧³⁾
中 村 恭 子¹⁾ 佐 藤 南¹⁾ 藤 井 正 実¹⁾
宮 地 鑑⁴⁾

要 旨

医療機器清拭用として改良された東レ株式会社製 単糸径 $2\mu\text{m}$ マイクロファイバークロス「Toraysee for CE[®]」(以下, Toraysee)は, 医療現場で使用されており, その性能はATPふき取り検査によって評価されている。

Torayseeがウイルス除去性能を有するかを, わが国の病院で広く使用されている第4級アンモニウム塩を含むクリーニングクロス(以下, Disinfectant cleaning cloth)と比較して評価した。ウイルス感染価は, ノロウイルス近縁種のネコカリシウイルス(*Feline calicivirus* F-9, ATCC VR-782)を用いて, CRFK細胞に感染させ, プラーク法により測定した。ウイルスの感染により生じた細胞変性効果(CPE)の数を集計し, 希釈倍率, 接種量より, ウイルス感染価を計算し, ウイルス誘出液1mLあたりの感染価を求め, ウイルス誘出液量(10mL)から試験担体あたりの感染価(PFU/試験担体)に換算した。なお, ウイルス除去の試験は一般財団法人北里環境科学センターウイルス部にて実施した。

今回の検討では, 薬剤を用いず水だけで湿らせたTorayseeのウイルス減少率は99.9%と高く, Disinfectant cleaning cloth以上の性能を有

することがわかった。このことから, 薬剤を使用しなくても物理的な除去効果のみでウイルス除去が可能であった。また, Torayseeは一度捕獲したウイルスを塗り広げないことがわかった。

以上のことから, Torayseeはウイルスに対しても新しい感染制御の手段の一つとして有効である。

ウイルスに対しては薬剤による感染制御が一般的であるが, Torayseeを使用することにより, 新生児が使用する保育器など薬剤の残存が児に影響を及ぼすような環境においても有用であることが示唆された。

I 背 景

近年, 臨床の場において感染管理は重要な要素となっている。医療機器管理においても, 院内感染防止の観点から, 清拭・消毒による感染制御が必要である。現在, 医療機器を清拭する場合, 薬剤による感染制御が一般的であるが, 最近ではマイクロファイバーを併用した除菌も検討されている¹⁾。また, 「医療現場における消毒と滅菌のためのCDC2008ガイドライン」²⁾でもマイクロファイバー素材の特徴と可能性が述べられている。現在, 医療機器清拭用として改

Key words : マイクロファイバー, ウイルス除去, 感染制御, 環境清拭, Toraysee

¹⁾北里大学病院ME部
医学部心臓血管外科学

²⁾北里環境科学センターウイルス部

³⁾東レ・メディカル株式会社

⁴⁾北里大学

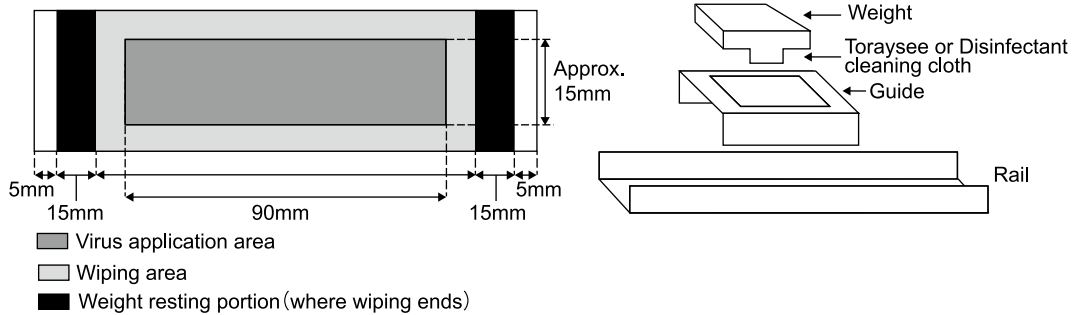


Fig. 1 Test sample carrier and wiping device

Wrap Toraysee or Disinfectant cleaning cloth around the weight of the wiping device (244g), and slide the test sample carrier for 1 second to wipe off viruses.

良された東レ株式会社製 単糸径 $2\mu\text{m}$ のマイクロファイバークロス「Toraysee[®] for CE」(以下, Toraysee)が医療現場で使用されており, Torayseeを用いた環境清拭では, ATPふき取り検査による評価において一定の効果があるとされている^{3~5)}。さらに, この効果は同様に生菌培養法で評価したふき取り試験でも確認されている⁶⁾。単糸径 $2\mu\text{m}$ の超極細繊維で構成されるマイクロポケットに, 目に見えない汚れを掻き込むことができるTorayseeは, 水などで湿らせて使用することにより, 薬剤を使用しなくても第4級アンモニウム塩などの薬剤が不織布に含浸させてある環境除菌用清拭クロスとATPふき取り検査での評価において同等の清拭効果があり, かつ汚れの再付着を起こさないことが確認されている。以上のように, さまざまな検証により単糸径 $2\mu\text{m}$ のマイクロファイバークロスであるTorayseeは感染管理に有用であることが実証されているが, 細胞を持たずATPの合成を行わないウイルスに対しての効果はいまだ検証されていない。ノロウイルスやインフルエンザウイルスなど感染力が強く, しばしば院内感染を引き起こすウイルスも多く, 環境清拭クロスではカバーできない病原性微生物の感染制御の観点からウイルスに対する除去効果を検討することは非常に重要である。

II 目 的

今回われわれは, 医療機器清拭用マイクロ

ファイバークロスTorayseeがウイルス除去性能を有するかを検討するために, 市販の環境除菌用清拭クロスと比較して評価した。

III 方 法

1 対 象

評価対象はTorayseeと, 対照としてわが国で広く医療機器清拭用に使用されている第4級アンモニウム塩, アルカリ剤を含浸させてある環境除菌用清拭クロス(以下, Disinfectant cleaning cloth)を用いた。

2 ウィルス調製とウィルス数測定

ノロウイルス近縁種のネコカリシウイルス(*Feline calicivirus* F-9, ATCC VR-782)を用い, ウィルス感染価の測定はCRFK細胞を用いたプラーク法により行った。ウィルス感染価の計算方法は, ウィルスの感染により生じたCPEの数を集計し, 希釈倍率, 接種量より, ウィルス感染価を計算し, ウィルス誘出液1mLあたりの感染価を求め, ウィルス誘出液量(10mL)から試験担体あたりの感染価(plaque forming unit: PFU/試験担体)に換算した⁷⁾。なお, ウィルス除去の試験は一般財団法人北里環境科学センターウィルス部にて実施した。

3 清拭試験方法

「一般社団法人 日本衛生材料工業連合会 ウェットワイパー類の除菌性能試験方法⁸⁾」を参考に, 清拭試験を行うこととした。しかし, 本法は細菌に対する試験であるため, ウィルス塗

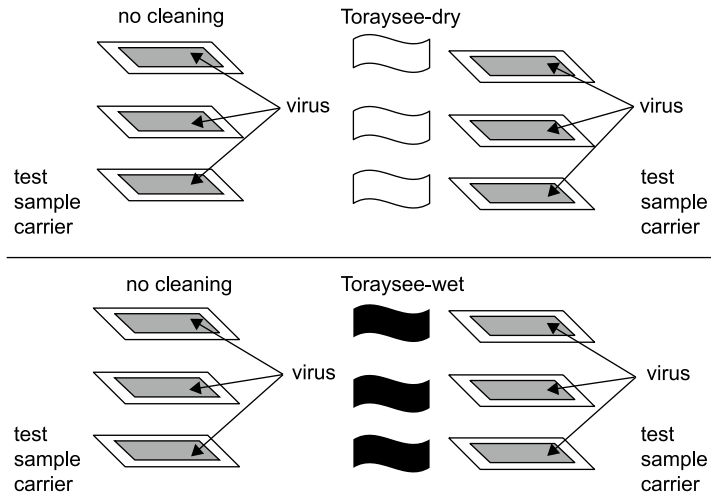


Fig. 2 Comparison between dry and wet Toraysee

Six virus-loaded test sample carriers were prepared, of which 3 were used as no-cleaning controls and 3 were wiped with Toraysee. Results with dry and water-wetted Toraysee were compared.

布量およびふき取り後の静置時間などの試験手順を一部変更し、重りを150gから244gに変更した(**Fig. 1**)。

4 試験担体の作成

- ①T75フラスコにCRFK細胞を単層培養した。
- ②細胞をリン酸緩衝生理食塩水(PBS: phosphate buffered saline)で洗浄し、提供されたウイルス株をウイルス多重感染価(MOI): $1/10^3 \sim 10^5$ になるように感染させた。
- ③37°Cで1時間感染させた後、細胞培養用の培地を添加した。
- ④37°Cで2~3日間、細胞変性効果(CPE: cytopathic effect)が細胞培養面積の90%程度になるまで培養した後、フラスコを-30°Cの冷凍庫に保管した。
- ⑤凍結融解を1回行った後、培養液を遠心分離(3000rpm, 4°C, 10分)し、細胞を除去し供試ウイルス液とした。必要に応じて限外ろ過膜を用いて濃縮したものを供試ウイルス液とした。
- ⑥試験担体(ステンレス製)ウイルス液塗布部分にウイルス液を50 μ L塗布した。
- ⑦安全キャビネット内で5分間乾燥させた。

5 dry条件とwet条件における清拭効果の比較

1/4に切断した乾燥状態のToraysee(以下, dry)を重り(244g)に装着し、ふき取り装置(**Fig.1**)に設置した後、ガイド部分の横を持ち、上から圧力を加えないようにして試験担体上を約1秒でスライドさせ、試験担体表面をふき取った。その後、ただちに試験担体をポリエチレン袋に入れ、PBSを加えて試験担体からウイルスを誘出し、プラーク法でウイルス感染価を測定した。また、1/4に切断したTorayseeに2mLの滅菌蒸留水を含浸させ(以下, wet), 重りに装着した後、dryでの試験条件と同様にスライドさせ、ふき取り効果を検討した(**Fig. 2**)。なお、それぞれの試験は $n=3$ で実施した。

6 Disinfectant cleaning cloth との比較

wet条件のTorayseeとDisinfectant cleaning clothとの清拭効果の比較を行った。試験手順は、前項と同様に操作した。なお、本試験は $n=6$ で実施し、ふき取り効果を比較検討した(**Fig. 3**)。

7 ふき取り後の清拭布からの再付着性の確認

清拭後、新たな環境表面を清拭した場合、ふき取ったウイルスが再付着するか検討した。

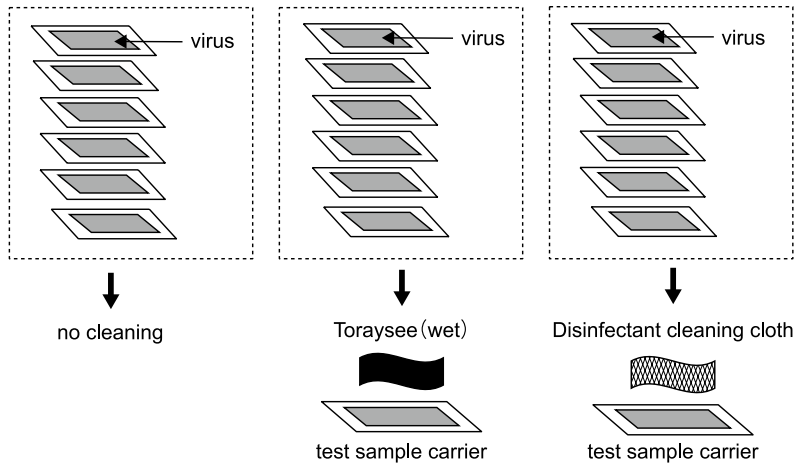


Fig. 3 Comparison between Toraysee (wet) and Disinfectant cleaning cloth
 Eighteen virus-loaded test sample carriers were prepared, of which 6 were used as no-cleaning controls, 6 were wiped with water-wetted Toraysee and 6 were wiped with Disinfectant cleaning cloth.

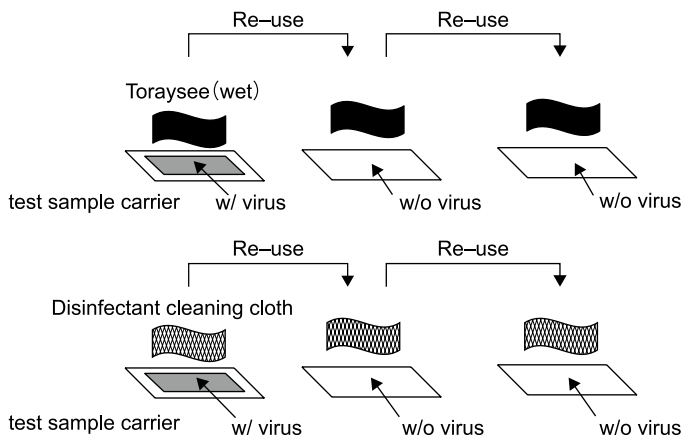


Fig. 4 Re-attachment and re-re-attachment tests

Non-virus-loaded test sample carriers were wiped with 6 sheets each of Toraysee (wet) and Disinfectant cleaning cloth and titers of viruses re-attached to the cleaned surface were measured.

Then, non-virus-loaded test sample carriers were further wiped with the Toraysee (wet) and Disinfectant cleaning cloth used for the re-attachment test, and viral titers were measured to evaluate viral re-attachment to the cleaned surface.

本試験では、wet条件のToraysee(wet)あるいはDisinfectant cleaning clothで清拭を行った後、ふき取り操作後の重りに装着した試験品(各クロス)を用いて、ウイルスを塗布していない試

験担体を清拭し、ウイルスの再付着あるいは再々付着が起こるか検討した(Fig. 4)。なお、試験はn=6で実施した。

Table 1 Comparison between dry and wet Toraysee

	Control	Toraysee (Dry)	Toraysee (Wet)
1	2.2×10^6	2.2×10^5	1.0×10^2
2	1.1×10^6	1.8×10^5	1.5×10^2
3	1.1×10^6	2.7×10^5	1.0×10^2
Mean viral titer	1.5×10^6	2.2×10^5	1.2×10^2
LRV		0.8	4.1
Reduction ratio (%)		84.2	99.9

Viral titer shows PFU/test sample carrier.

When calculating means, values below the detection limit (< 100) were taken as 100.

$$\text{Log reduction value (LRV)} : \text{Log}_{10} \left[\frac{\text{Mean initial viral titer}}{\text{Mean viral titer of all experiments}} \right]$$

$$\text{Reduction ratio (\%)} : \left[1 - \frac{1}{10^{\text{LRV}}} \right] \times 100 (\%)$$

The reduction ratio was 99.9% with wet Toraysee versus 84.2% with dry Toraysee.

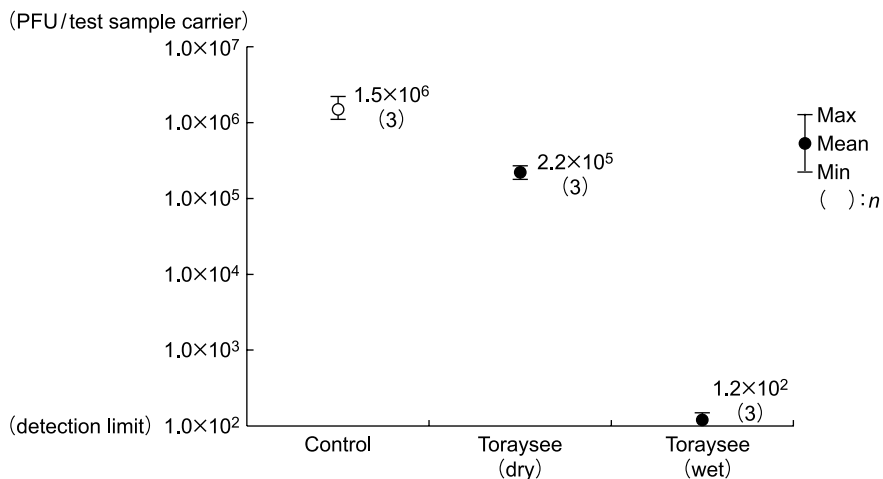


Fig. 5 Comparison between dry and wet Toraysee

Higher cleaning efficiency was obtained with wet Toraysee than with dry Toraysee, as some viruses were detected after wiping with dry Toraysee while viruses were eliminated below the detection limit with wet Toraysee.

IV 結 果

1 dry条件とwet条件における清拭効果の比較

清拭試験におけるdry条件とwet条件の比較では、清拭を行わなかったcontrol(以下、control群)($n=3$)の試験担体の感染価の平均値

は、 1.5×10^6 PFU/試験担体であった。dry群($n=3$)は平均 2.2×10^5 PFU/試験担体となり、control群に対する減少値(LRV: logarithmic reduction value)は $0.8 \log_{10}$ (減少率: reduction ratio 84.2%)であった。また、wet群($n=3$)は平均 1.2×10^2 PFU/試験担体、control群からの

Table 2 Comparison between Toraysee and Disinfectant cleaning cloth

	Control	Toraysee (Wet)	Disinfectant cleaning cloth
1	1.8×10^5	1.5×10^2	6.0×10^3
2	2.3×10^5	2.0×10^2	1.6×10^3
3	1.9×10^5	$< 1.0 \times 10^2$	2.3×10^4
4	6.0×10^4	1.4×10^2	2.4×10^4
5	1.3×10^5	$< 1.0 \times 10^2$	1.8×10^3
6	8.0×10^4	$< 1.0 \times 10^2$	1.9×10^4
Mean viral titer	1.5×10^5	1.3×10^2	1.3×10^4
LRV		3.1	1.1
Reduction ratio (%)		99.9	92.1

Viral titer shows PFU/test sample carrier.

When calculating means, values below the detection limit (< 100) were taken as 100.

$$\text{Log reduction value (LRV)} : \text{Log}_{10} \left[\frac{\text{Mean initial viral titer}}{\text{Mean viral titer of all experiments}} \right]$$

$$\text{Reduction ratio (\%)} : \left[1 - \frac{1}{10^{\text{LRV}}} \right] \times 100 (\%)$$

The reduction ratio was 99.9% with wet Toraysee versus 92.1% with Disinfectant cleaning cloth.

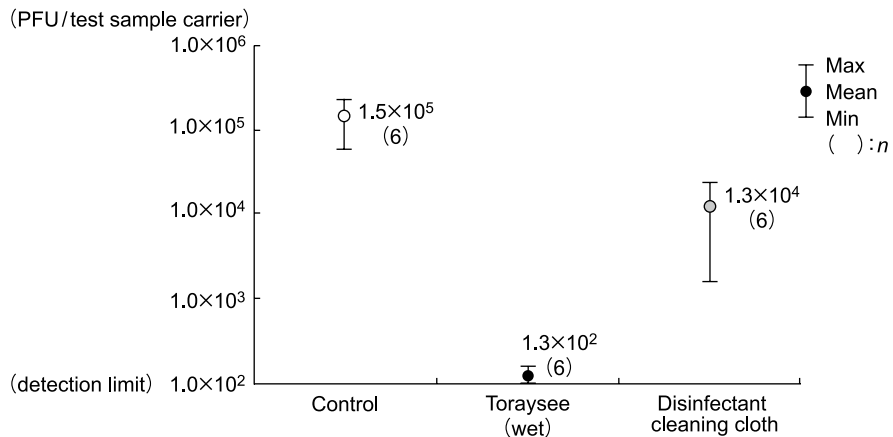


Fig. 6 Comparison between Toraysee and Disinfectant cleaning cloth

Toraysee demonstrated higher virus removal efficiency compared to Disinfectant cleaning cloth.

減少値は4.1 log₁₀となり、減少率は99.9%となった (Table 1)。この結果から、dry条件では検出されたウイルスも、wet条件では検出限界以下となり (Fig. 5)、dry条件で使用するよりもwet条件で使用したほうが清拭効果は高いこと

が明らかとなった。

2 ふき取り効果の比較試験

清拭試験におけるwet条件のToraysee(wet)とDisinfectant cleaning clothの比較では、control群(n=6)の試験担体の感染価の平均値

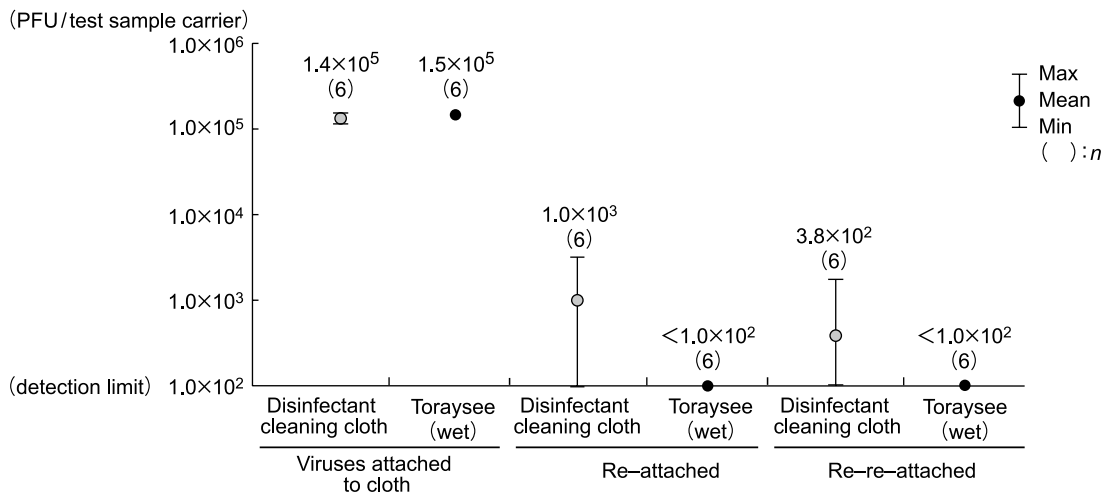


Fig. 7 Re-attachment and re-re-attachment tests

Toraysee does not re-spread captured viruses over the cleaned surface even after multiple times of wiping, whereas wiping multiple times with Disinfectant cleaning cloth may re-spread captured viruses over the cleaned surface.

は 1.5×10^5 PFU/試験担体であったが、Toraysee (wet) 群 ($n = 6$) は平均 1.3×10^2 PFU/試験担体となり、control 群からの減少値は $3.1 \log_{10}$ (減少率 99.9%) となった。また、Disinfectant cleaning cloth 群 ($n = 6$) は平均 1.3×10^4 PFU/試験担体となり、control 群からの減少値は $1.1 \log_{10}$ (減少率 92.1%) となった (Table 2)。本試験では、Disinfectant cleaning cloth よりも Toraysee (wet) のほうがウイルス除去効果は高いことが明らかとなった (Fig. 6)。

3 再付着性の確認

ふき取り後の各クロスからの再付着性の確認では、Toraysee (wet) 群 ($n = 6$) は、再付着試験、再々付着試験ともに検出限界値 (1.0×10^2 PFU/試験担体) となり、再付着は認められなかった。一方、Disinfectant cleaning cloth 群 ($n = 6$) では、再付着試験にて 1.0×10^3 PFU/試験担体、再々付着試験にて 3.8×10^2 PFU/試験担体のウイルスが検出された。この結果から、Toraysee (wet) はマイクロポケットに捕獲したウイルスを複数回清拭しても塗り拡げないが、Disinfectant cleaning cloth では複数回の清拭により、ウイルスを清拭面に塗り拡げる可能性が示唆された (Fig. 7)。

V 考 察

今回、医療機器清拭用マイクロファイバークロスである Toraysee のウイルスに対する清拭効果の検討を、ノロウイルス近縁種でノロウイルスの代替として用いられているネコカリシウイルスを用いて行った。

1 医療機器清拭用マイクロファイバークロスの使用方法

Toraysee は医療機器向け清拭クロスで単糸径約 $2 \mu\text{m}$ のマイクロファイバーを採用したクロスであり、有機物などの汚れの除去をはじめとした洗浄に特化している。本品はウォータージェットパンチ加工を施しているため、どのふき取り方向にも使用することができ、必要に応じて dry 状態、wet 状態でも使用できるうえ消毒薬の含浸も可能であるが、dry 状態よりも適度に湿らせたほうが清拭効果が高いとの報告がある⁹⁾。医療現場で使用する場合には、血液や体液などの汚れを水などで溶かしてふき取る場合が多く、今回、比較対照に用いた Disinfectant cleaning cloth も薬剤を染み込ませて湿らせている。このため、医療環境で Toraysee を使用するにあたり、dry 状態で使用するか、wet

状態で使用するか検討の必要があった。現在まで細菌やATP測定による清拭効果の検討結果から、水を含浸させたTorayseeの清拭効果は高いことが証明されている。今回、ウイルスを用いた清拭効果の検討結果でも同様に、dry状態のTorayseeでは清拭効果が十分ではなく、wet条件で清拭した場合に効果が高いことが明らかとなった。したがってTorayseeを使用する場合には、湿らせて使用したほうが清拭効果がより高くなることが示された。

2 ウイルス除去効果

今回の検討では、Toraysee(wet)のウイルス除去効果は減少率99.9%と高く、Disinfectant cleaning cloth以上の性能を有することがわかった。現在、医療現場での医療機器の清拭は、Disinfectant cleaning clothによるものが一般的であるが、一部のDisinfectant cleaning clothの成分は、殺菌効果は有するがノロウイルスなどのウイルスに対しての不活効果は低いとされている。しかし、Torayseeを使用することにより、Disinfectant cleaning clothではカバーできない病原性微生物の感染制御の観点から、ウイルスに対する除去効果を発揮することができ、また、新生児が使用する保育器など薬剤の残存が児に影響を及ぼすような医療機器においては、薬剤による環境制御と比べて有用であると考え¹⁰⁾。

今回検討に用いたTorayseeは、医療現場で使用される次亜塩素酸ナトリウム液や第4級アンモニウム塩などの各種の消毒薬に対して耐薬品性を有しているため、消毒薬を含浸させて使用することも可能であり、汚れをマイクロファイバーで構成されるマイクロポケットに掻き込み、対象表面から汚れを物理的に除去する効果と、消毒薬による殺菌効果をあわせることが可能となるため、従来の消毒薬のみによる消毒に加え、さらなる効果が期待できる。

ノロウイルスは、医療現場において強い感染性と消毒薬耐性から消毒が困難なウイルスの一つである。ノロウイルスの感染制御においては一般的に次亜塩素酸ナトリウム液による消毒

が使用される。今回の結果は、金属腐食性を有する次亜塩素酸ナトリウム液による消毒が必要なノロウイルスの処理においても、新しい感染管理の方法として提案できるものであると考える。

3 再付着性の試験

医療機器や環境の清拭では、一面を一方だけ清拭して破棄するのではなく、清拭布を往復させたり、清拭布の清拭面を複数回使用することが一般的である。このため、清拭布によるウイルスの塗り拡げや再付着が問題となる。

今回の検討では、Disinfectant cleaning clothでは、一度クロスに付着させたウイルスを塗り拡げる可能性があることが示唆されたが、Toraysee(wet)は同一面による再清拭、再々清拭によってウイルスが検出されなかったことから、マイクロポケットに捕獲したウイルスを塗り拡げない可能性が示唆された。

4 まとめ

今回、Torayseeのウイルスに対する清拭効果を検討したことにより、諸家がすでに報告しているTorayseeによる医療機器清拭における高い洗浄性能、除菌の可否に加え、ウイルス除去の知見が得られた。これにより、医療機器管理方法の変更や感染制御において薬剤使用量の低減が可能となると思われる。Disinfectant cleaning clothと比して、コスト面ではTorayseeのほうが1枚あたりの単価は高価であるが、汚染物の除去効果と非再付着性やメガネレンズなども拭ける耐傷性などの有効性を考慮するとコスト以上の効果は期待できると考える。なお、Torayseeによる汚れ除去の機序は物理的除去であるため、ウイルスの種類によって除去能に差はないと考えられるが、Torayseeの使用目的が洗浄でなく消毒であれば、消毒対象に適切な消毒薬を含浸させ使用すべきである。

Torayseeは医療機器の清拭を目的として開発され、ATPふき取り検査など、諸々の検討を行った結果に基づく製品仕様となっている。したがって、今回の結果は市販されているすべて

のマイクロファイバークロスに当てはまるものではない。このため、マイクロファイバークロスをウイルス除去などの感染管理に用いる場合には、その効果を検証してから使用されるべきであると考えられる。

結 語

医療機器清拭用マイクロファイバークロス「Toraysee[®] for CE」は、ウイルスに対しても高い除去効果を有し、一度捕獲したウイルスを塗り拡げないことがわかった。このため、ウイルスに対しても新しい感染制御の手段の一つとして有効であると考えられる。

【謝辞】 本論文の作成にあたり、終始適切な助言をいただいた元 国立医薬品食品衛生研究所鹿庭正昭氏に感謝申し上げます。さらに、論文を推薦いただきました一般社団法人北里環境科学センター微生物部菊野理津子氏に感謝申し上げます。また、本実験を実施いただきました一般社団法人北里環境科学センターウイルス部の皆様に感謝いたします。

文 献

- 1) 梶原理恵, 津田智恵美, 中島治代. 高頻度接触箇所からの伝播経路遮断に必要な病床環境整備方法の確立. 環境感染誌 2014;29 (suppl.):423.

- 2) 満田年宏. 医療現場における消毒と滅菌のための CDC ガイドライン2008: 要点・特徴の紹介. 感染対策 ICT ジャーナル 2010;5 (1):115-21.
- 3) 中村恭子, 東條圭一, 佐藤恵莉奈, 國香正見, 早速慎吾, 白井敦史. クリーニングクロスの検討. 医療機器学 2012;82 (2):600-1.
- 4) 東條圭一, 中村恭子, 佐藤恵莉奈, 早速慎吾, 藤井正実, 宮地鑑. マイクロファイバー素材クリーニングクロスによる医療機器清拭効果について. Ther Res 2013;34 (3):399-407.
- 5) 畠山拓也, 松田光喜, 大沢元和, 熊谷誠. 東レ株式会社製 Toraysee for CE の有用性についての検討. 日臨工技士会誌 2014;(51):253.
- 6) 武藤昌岡, 近藤航, 戸崎青星, 木村大樹. クリーニングクロス (Toraysee for CE) 拭き取りによる除菌効果の検討. 日臨工技士会誌 2014;(51):262.
- 7) 厚生労働省告示第 395 号. 日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件. 2002.
- 8) 高麗寛紀監修. ウエットワイパー類の除菌性能試験方法. 一般社団法人 日本衛生材料工業連合会. 2013.
- 9) 佐藤南, 東條圭一, 中村恭子, 國香正見, 海老根智代, 富永聖章ほか. マイクロファイバー素材クリーニングクロスとレシーの血液拭き取りに関する検討. 日臨工技士会誌 2014;(51):254.
- 10) 北島博之, 藤村正哲, 竹内徹. 保育器清拭による消毒剤耐性菌の出現について. 大阪母子保健総合医療雑誌 1989;5 (2):93-9.

Evaluation of Virus Removal Efficiency with a Microfiber Cleaning Cloth

Keiichi Tojo¹⁾, Yasuhiro Nojima²⁾, Nobuyasu Sagehashi³⁾, Kyoko Nakamura¹⁾,
Minami Sato¹⁾, Masami Fujii¹⁾ and Kagami Miyaji⁴⁾

¹⁾ Department of Medical Engineering, Kitasato University Hospital

²⁾ Department of Virology, Kitasato Research Center for Environmental Science

³⁾ Toray Medical Co., Ltd.

⁴⁾ Department of Cardiovascular Surgery, Kitasato University School of Medicine

Toraysee for CE[®] (hereinafter, referred to as Toraysee) is a microfiber cloth with a fiber diameter of 2 μ m developed by Toray specifically for the purpose of cleaning medical equipment and has been in use in clinical practice. The performance of the product is evaluated by the adenosine triphosphate (ATP) wipe test.

We compared the virus removal efficiency of Toraysee with those of a cleaning cloth impregnated with quaternary ammonium salt (hereinafter, referred to as the Disinfectant

cleaning cloth), which is commonly used in Japanese hospitals.

Feline calicivirus F-9 (ATCC VR-782), a norovirus-related species, was used as the test viral strain. Viral infectivity was measured by a plaque assay using CRFK cells. Viral infectivity per 1 mL of the viral eluting solution was calculated from the number of CPEs caused by viral infection, dilution factor and inoculum dose, and the plaque-forming unit per test sample carrier (PFU/carrier) was calculated from the total volume of viral eluting solution (10 mL). The virus removal test was performed at the virus section of the Kitasato Research Center for Environmental Science.

For this test no cleaning chemical was used and Toraysee was moistened only with water, but the test result indicates a high virus removal efficiency of 99.9% , demonstrating a superior performance over Disinfectant cleaning cloth. This result suggests that sufficient virus removal can be achieved only with mechanical wiping, without any disinfectant. Furthermore, Toraysee did not re-spread captured viruses over the surface. These observations indicate the potential of the product as a new means of viral infection control.

While viral infection control is usually attempted by the use of antiviral drugs, the use of Toraysee may be beneficial in some circumstances where the presence of drug remnants may affect the patient, such as the cleaning of neonatal incubators.

< 2014年8月7日 受稿 >