

バクテリオファージを用いた B 型肝炎ウイルスの洗浄評価技術の開発

しまだたいち¹、くらもとやすゆき¹、やまうちあさお²
島田太一¹、○倉本恭行¹、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〕

観血処置が多い医療現場等で、B型肝炎ウイルス(HBV)の感染が問題となっている。患者の血液や体液の飛沫で医療用具や機器類が汚染され感染が広がる。これを防止するにはHBVの汚染状況の把握が必要となるが、ヒトがHBVを安全に取り扱って簡便に評価するのは難しい。そこで我々はHBVと同じ膜形質でありながらヒトに感染しないバクテリオファージ($\phi 6$)に注目し、これをHBVの代替ウイルスに用いて抗ウイルス活性を評価する方法と評価用インジケータの作製を行った。

〔方法〕

抗ウイルス活性を評価するために、予め $\phi 6$ を夾雑物(ウシ血清アルブミン、ウシ胎児血清または硫酸プロタミン含有ヒツジ全血液)と混合しておいた。洗浄液はHBVに対する抗ウイルス活性を確認した洗浄液¹⁾(タイフレッシュ・エースNEO:太平化学産業等)を用いて、 $\phi 6$ 溶液に暴露した。27°Cで30分後、得られる溶液中に残存する $\phi 6$ のファージ数を*Pseudomonas Syringae*を宿主菌とするプラーク形成法で測定した。洗浄液の抗ウイルス活性値は、暴露前のファージ数に対する対数減少値とした。洗浄評価用インジケータはガイドラインを参考に、 $\phi 6$ と硫酸プロタミン含有ヒツジ全血液の混合液をSUS板に塗布し、室温で乾燥することで作製した²⁾。インジケータの評価は、洗浄液に27°Cで30分間浸漬後、板に残存する $\phi 6$ をスワブによるふき取りで収集し、液体培地中に懸濁した。懸濁液中の $\phi 6$ 量は上述のプラーク形成法で測定した。また、洗浄後の板上に残存するタンパク質量をウシ血清アルブミン換算でBradford法により定量した。

〔結果および考察〕

各種洗浄液の $\phi 6$ に対する抗ウイルス活性を調べたところ、実際のHBV活性値と相関性が認められたことから、HBVの代替候補として $\phi 6$ が有効であることがわかった。 $\phi 6$ とヒツジ全血液を塗布したインジケータに対して、上記洗浄液で浸漬洗浄を行ったところファージ数は浸漬前と比べて減少していた。また、洗浄液の濃度を変更すると、 $\phi 6$ の活性値に違いがあったことから評価系として確立されていることが明らかとなった。さらに、洗浄後の板に残存するタンパク質量を測定したところタンパクの除去量とウイルスの減少量は一致していなかった。これらの結果は、抗ウイルス(HBVを含む)活性を示す洗浄液を選定する上で、疑似汚染物としてタンパク質の除去をもって評価する従来のインジケータは不十分であることを意味している。本研究で作製したインジケータはヒトに感染しないウイルスを使用しているため、安全かつ簡便に洗浄液の抗ウイルス活性の評価ができるだけでなく、実際の医療現場の洗浄や汚染状況の把握に活用することが期待できる。

〔文献〕

1)高橋ら: 第54回日本肝臓学会総会 発表要旨 p.A490 (2018)

2)(一社)日本医療機器学会: 医療現場における滅菌保証のガイドライン 2015 p.29 (2015)