

銀イオンによる新型コロナウイルスの不活化

鈴木 陽一, 中野 隆史

大阪医科薬科大学医学部微生物学・感染制御学教室

要旨: COVID-19の原因ウイルスである新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)は, 呼吸器を通じてヒトに感染することから, くしゃみや咳などによって放出されたウイルスを不活化することが感染対策として有効である。本研究では, 抗菌剤として知られる銀イオンによるSARS-CoV-2の不活化について検討した。その結果, 銀イオンを含む蒸留水(銀イオン水)とSARS-CoV-2を混合すると, 6時間の混合処理でウイルスの感染価が99.9%以上低下することが示された。また, 銀イオン配合塗料を塗装したアクリル試験片の表面では, 銀イオンを含まない塗料の表面よりもSARS-CoV-2の感染価がより大きく減少し, さらには, 銀イオン水をスプレー噴霧し乾燥させた試験片の表面でも強いウイルスの不活化が確認された。以上のことより, 銀イオンはその接触によってSARS-CoV-2の感染力を低下させる効果をもつことが明らかとなり, 環境表面でのウイルス不活化を目的とした感染対策に極めて有用であると考えられた。

Key words: 新型コロナウイルス, 銀イオン, ウイルス不活化, 感染対策, COVID-19

緒 言

新型コロナウイルスと称される重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2型(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 [SARS-CoV-2])は, コロナウイルス科(*Coronaviridae*)のコロナウイルス亜科(*Orthocoronaviridae*)に分類されるベータコロナウイルスであり, ヒトに新型コロナウイルス感染症(coronavirus disease 2019 [COVID-19])を引き起こす。COVID-19は, 呼吸器症状を主訴とし, さらには急性呼吸窮迫症候群, 血管炎, 血栓症, 脳卒中, そして心筋梗塞などの重篤な症状が引き起こされる¹⁾。2019年末に中国・武漢市で最初の感染例が確認されて以来, SARS-CoV-2の流行拡大は2023年に入っても続いており, これまでに世界中で7億人以上の感染者と680万人以上の死者が報告されている(2022年12月時点)²⁾。我が国をみても累積感染者数は3,200万人を超えており(2023年2月現在), COVID-19のパンデミックは収束の見通しが立っていない³⁾。現在, COVID-19の蔓延防止を目的としてSARS-CoV-2の中和抗体を誘導するワクチンや, ウイルス増殖を抑制する薬剤の開発が精力的におこなわれており, そのうちの幾つかは一般の人に向けた予防ワクチンや感染者への治療薬としてす

に実用化されている^{4) 5)}。しかし, その発生から3年を迎えた今でもCOVID-19の流行が収まらないひとつの大きな原因は, ウイルスの遺伝子が変化することによる新しい変異ウイルス株の出現であり⁶⁾, それによって今後は既存のワクチンや抗ウイルス薬の有効性が低下する恐れがある。したがって, 今後も出現するであろう変異ウイルス株に対しても普遍的に有効な感染対策を確立することは, COVID-19の蔓延阻止という点において極めて重要である。

SARS-CoV-2のようなウイルスに限らず全ての病原微生物がヒトに病気を引き起こすには, 病原体の1)感染源, 2)感受性宿主, そして3)感染経路といった要因がすべて存在しなければならない(感染の3要素)。逆に, それらの要素をひとつでも取り除くことができれば感染症の蔓延を防ぐことが可能となる。COVID-19の場合, SARS-CoV-2感染者の鼻や口から放出された感染性ウイルス粒子を含む飛沫が呼吸器を通じて体内に取り込まれることが大きな伝播要因であるが, 飛沫もしくはウイルスそのものが付着した物体の表面を触った手指で粘膜を触ることによっても感染が成立することが報告されている^{7) 8)}。このようなSARS-CoV-2の伝播様式を考えた場

合、ワクチンや抗ウイルス薬の投与は、感染源や感受性宿主でのウイルス量を減らすことができるものの、それらの効果は対象となる宿主(ヒト)の健康状態や行動に大きく影響を受ける。それに対して感染経路の遮断は、技術的なコントロールによって安定した感染対策を実現できる。SARS-CoV-2を含むエンベロープウイルスは、非エンベロープウイルスに比べると界面活性剤やエタノールなど、脂質を溶解する化学物質に対して弱いという特徴をもつものの、SARS-CoV-2は室温下でも一定期間は感染性を保つことが報告されている⁹⁾。COVID-19はその最初の発生から3年が経過し、ウイルスの感染経路について不明な点が多かった初期に比べると、現在では主に飛沫感染予防を目的とした感染対策が中心となっており、接触感染のリスクは以前懸念されていた程には高くないと考えられている¹⁰⁾。実際に、一般の生活環境からはSARS-CoV-2のRNAがPCRによって検出されるものの^{11)–15)}、それらで検出されるウイルスRNA量は、培養細胞で感染性を示すウイルス量には満たない¹⁶⁾。しかしながら、SARS-CoV-2が付着する可能性のある環境表面に何らかの形でウイルスを不活化できる特性を付与すれば、特にエタノールによる消毒が困難な場合や、不特定多数の人々が高頻度に接触する箇所における感染対策としては依然として有効である¹⁷⁾。

古くより重金属イオンの幾つかは、細菌に対して抗菌活性をもつことが良く知られている¹⁸⁾。その中でも比較的人体に悪影響の少ない銀イオン(Ag⁺)は、実際に無機系抗菌剤として一般生活での加工製品(家電、台所用品、衛生用品、玩具など)の素材に練り込み使用されている¹⁹⁾。一方、銀イオンは、細菌だけでなく病原ウイルスに対しても阻害効果を示すことがすでに報告されている²⁰⁾。そこで、本研究においては銀イオンのSARS-CoV-2に対する抗ウイルス活性を検証することを目的とした。

材料と方法

1. 細胞とウイルス

感染実験には、SARS-CoV-2のスパイク(Spike [S])タンパク質の開裂を促進するヒトのTMPRSS2プロテアーゼを発現させたアフリカミドリザル腎臓上皮由来Vero E6/TMPRSS2細胞(JCRB細胞バンク)を用いた²¹⁾。Vero E6/TMPRSS2細胞は、10%の非燻化済みウシ胎児血清(fatal bovine serum [FBS], Thermo Fisher Scientific), 100 units/mLペニシリン(ナカライテスク), 100 μg/mLストレプトマイシン(ナカライテスク), そして1 mg/mL G418 (InvivoGen)を含むDulbecco's modified Eagle's Medium (DMEM [ナカライテスク])を用いて、37°CのCO₂インキュベーターにて維持培養した。SARS-CoV-2

は、大阪医科薬科大学病院に来院したCOVID-19患者よりVero E6/TMPRSS2細胞を用いて分離したOMC-510株(武漢株系統)を用いた²²⁾。SARS-CoV-2ストックの感染価は、Vero E6/TMPRSS2細胞を用いたブランクアッセイ法によって測定した²³⁾。

なお、感染性SARS-CoV-2を用いたすべての実験は、大阪医科薬科大学医学部・看護学部生物安全管理委員会の承認を受け、大阪医科薬科大学医学研究支援センターP3A実験室にて実施された。

2. ブランクアッセイ法

前日に1ウェルあたり1.5×10⁵個のVero E6/TMPRSS2細胞を播種した24ウェルプレートを用いてブランクアッセイをおこなった。FBSを含まない(無血清)DMEMで希釈した200 μLのSARS-CoV-2液を各ウェルに加え、37°CのCO₂インキュベーターでインキュベーションし、2時間後の培養上清を500 μLのMCM粘性培地(1% methyl cellulose 4000cp [富士フィルム和光純薬], 2% FBS, そして1 mM L-glutamineを含むEagle's Minimum Essential Medium [ナカライテスク])と置き換え、CO₂インキュベーターでさらに3日間培養した。細胞は3.7%ホルムアルデヒドで固定し、流水で洗浄した後に、1%クリスタルバイオレット溶液にて染色した。各ウェルに形成されたブランク(SARS-CoV-2感染に伴う細胞死によってプレートから剥離したためクリスタルバイオレットによって染まらなかった細胞群)の数は目視にて計測し、1 mLあたりの感染性ウイルス量(plaque forming units [PFU]/mL)として算出した。

3. 銀イオン水試験

実験では、株式会社リテラスより供与された銀イオン水(銀イオンのみを含む蒸留水)を用いた。10 μLのSARS-CoV-2液(5×10⁶ PFU/mL)と90 μLの銀イオン水(25, 50, もしくは100 parts per million [ppm]の銀イオンを含む)、または滅菌蒸留水(以降滅菌水とする)を混合し、25°Cで10分から6時間インキュベーションした。処理したウイルス液は、無血清DMEMで10~10,000倍まで希釈した後にブランクアッセイに供した。

4. 銀イオン配合塗膜試験

銀イオン配合塗料を塗装した試験片は、株式会社リテラスより供与された。銀イオン配合塗膜上におけるSARS-CoV-2不活化の検証は、国際標準化機構(ISO)による非浸透性表面の抗ウイルス活性を評価するISO21702を参考にしておこなった²³⁾。シリコン樹脂をベースとしたクリア塗料に25, 50, または100 ppmの銀イオンを配

合したものを塗装したアクリル試験片(5×5 cm, 非抗菌仕様 [アクリルサンデー株式会社]), 銀イオンを含まない(無配合)クリア塗料を塗装したアクリル試験片, そして50 ppmの銀イオン水を表面にスプレー噴霧して乾燥させたアクリル試験片にそれぞれ 1×10^6 PFUのSARS-CoV-2を含む400 μ Lのウイルス液を滴下し, 4×4 cmのパラフィンフィルム(Parafilm® [Fisher Scientific])で上部から被覆することによってウイルス液を試験片に密着させた。そして, それぞれのアクリル試験片を10 cmディッシュ内に置き, 25°Cで6時間インキュベーションした。インキュベーション後, 試験片を5 mLの無血清DMEMで洗浄することによってウイルス液を回収し, その溶出液中のウイルス感染価をプラークアッセイ法によって算出した。

5. 統計学的解析

得られた実験結果はJMP Proソフトウェア(SAS Institute)を用いて統計学的に解析し, P 値が0.05以下の場合に有意な差があると判断した(**: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$)。

結 果

SARS-CoV-2の感染性に対する銀イオンの影響を評価するため, SARS-CoV-2武漢株を由来とするOMC-510株のウイルス液(5×10^6 PFU/mL)を9倍量の銀イオン水(100 ppmの銀イオンを含む蒸留水), または滅菌水と混合し, 処理後のウイルスの感染価の変化をプラークアッセイ法によって調べた(図1 A)。まずコントロール処理区として, 滅菌水と混合し10分間インキュベーションしたSARS-CoV-2(コントロール処理)の感染価は 3.2×10^6 PFU/mL(感染価減少率35.4%)であり, 6時間のインキュベーションでは 5.7×10^5 PFU/mLの感染価であった(感染価減少率88.6%, 図1 B)。一方, 銀イオン水で処理したウイルス液は, 10分間の処理で滅菌水処理よりも有意に低い感染価の低下がみられた(2.2×10^6 PFU/mL, 感染価減少率57.0%, 図1 B)。さらに, 銀イオン水で60分間処理した場合には, 滅菌水による6時間処理よりもウイルス感染価が低く(8.3×10^4 PFU/mL, 感染価減少率98.3%), 銀イオン水と6時間インキュベーションした場合の感染価は 1.2×10^3 PFU/mLにまで低下していた(感染価減少率99.9%以上, 図1 B)。次に, 異なる銀イオン濃度の銀イオン水を用いて, 6時間処理後のウイルス感染価の減少率を比較したところ, 25 ppmの銀イオン水処理の場合でも99.9%以上の感染価の減少が確認された(図2)。このとき, コントロール処理での感染価の減少率は86.9%であった。また, 50 ppmの銀イオン水を

用いた場合は, より強い感染価の低下が確認されたが, プラークアッセイ法によって測定された残存ウイルス感染価は, 100 ppm銀イオン水処理によるそれと大きな違いはみられなかった(図2)。これらの実験では, Vero E6/TMPRSS2細胞への感染前にSARS-CoV-2を処理していることから, 銀イオン水の処理によってウイルス粒子の感染性の低下, すなわちウイルスの不活化が引き起こされたと考えられた。

上述のように, 銀イオンは他の重金属イオンに比べると安全性が高いことから, 様々な日用品の素材に抗菌剤として配合されている^{19) 24)}。SARS-CoV-2のような飛沫

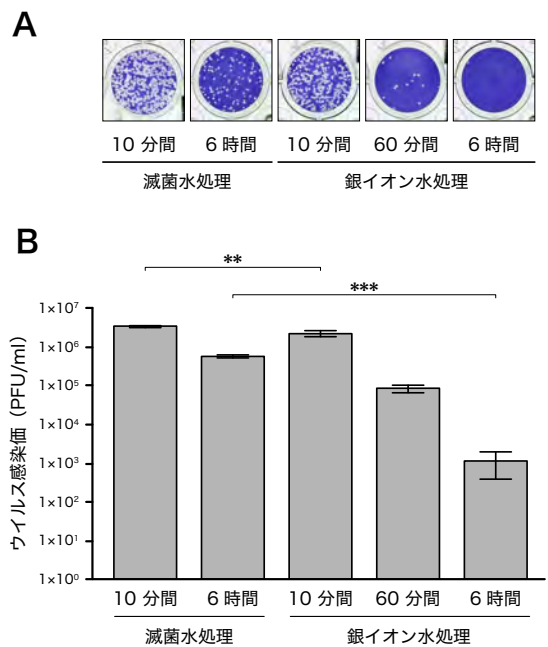


図1 銀イオン水によるSARS-CoV-2の不活化
(A) 銀イオン水で処理したSARS-CoV-2を用いたプラークアッセイの結果。SARS-CoV-2を9倍量の滅菌水または100 ppm銀イオン水と混合し, 10分間から6時間まで室温でインキュベーションした。その後, 処理液を無血清培地で1,000倍に希釈し, そのうち200 μ Lを24ウェルプレートのVero E6/TMPRSS2細胞に接種した。細胞は, 接種から3日後にホルムアルデヒドで固定し, クリスタルバイオレットを用いて染色した。各ウェルで青く染まっている領域はSARS-CoV-2の感染を受けずに生き残っていた細胞を示しており, 染まっていないスポットがウイルス感染によって死んだ細胞群(プラーク)を表している。(B) 滅菌水または銀イオン水で処理したSARS-CoV-2の感染価。それぞれの処理は合計3回おこない, プラークアッセイによって測定された残存ウイルス感染価(PFU/mL)の平均値を棒グラフで表した。エラーバーは標準偏差(SD)を示す。

感染によって伝播する病原性ウイルスに対しては、飛沫が付着した環境表面でウイルスを不活化することが感染対策において非常に重要である¹⁾。そこで、銀イオンが存在する環境表面でSARS-CoV-2の不活化が引き起こされるかどうかを検討した。25, 50, ならびに100 ppmの銀イオンを含む塗料, もしくは銀イオンを含まない塗料をそれぞれ塗装したアクリル試験片に 1×10^6 PFUの

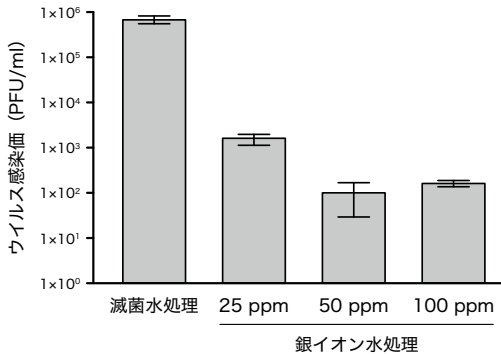


図2 SARS-CoV-2の不活化における銀イオン濃度の影響 25, 50, そして100 ppmの銀イオン水, または滅菌水でSARS-CoV-2を処理し, 6時間後の残存ウイルス感染価をプラークアッセイ法で測定した。それぞれの処理は合計4回おこない, 感染価(PFU/mL)の平均を棒グラフで表した。エラーバーは標準偏差(SD)を示す。

SARS-CoV-2液(400 μ L)を滴下し, 上部よりパラフィンフィルムで被覆することでウイルスを試験片表面に密着させた(図3 A)。6時間後に5 mLの培地を使って回収したSARS-CoV-2液の感染価をプラークアッセイ法によって測定したところ, 無配合塗料表面に密着させたウイルスの感染価は 1.8×10^4 PFU/mLであったのに対し, 25, 50, そして100 ppm銀イオンを配合した塗料に暴露した場合の感染価はそれぞれ 2.9×10^3 PFU/mL, 3.7×10^3 PFU/mL, および 1.8×10^3 PFU/mLであった(図3 B)。試験片に暴露しないウイルスの感染価は 4.9×10^4 PFU/mLであったことから, 無配合塗料表面でもウイルス感染価の低下(62.2%)がみられたものの, 銀イオン配合塗料の表面ではそれよりもさらに強い感染価の低下(100 ppm銀イオン配合塗料で96.2%)が確認された(図3 B)。興味深いことに, 無配合塗料を塗装したアクリル板の表面に50 ppmの銀イオン水を噴霧し乾燥させた試験片では, 銀イオン配合塗料を塗装した試験片よりもさらに強いウイルスの不活化効果がみられた(8.1×10^2 PFU/mL 図3 B)。以上の結果より, 銀イオンを含む環境表面はSARS-CoV-2を有意に不活化できることが明らかとなった。

考察

抗菌製品技術協議会(SIAA)では, 加工製品上の特定ウイルスの数を減少させることを“抗ウイルス”である

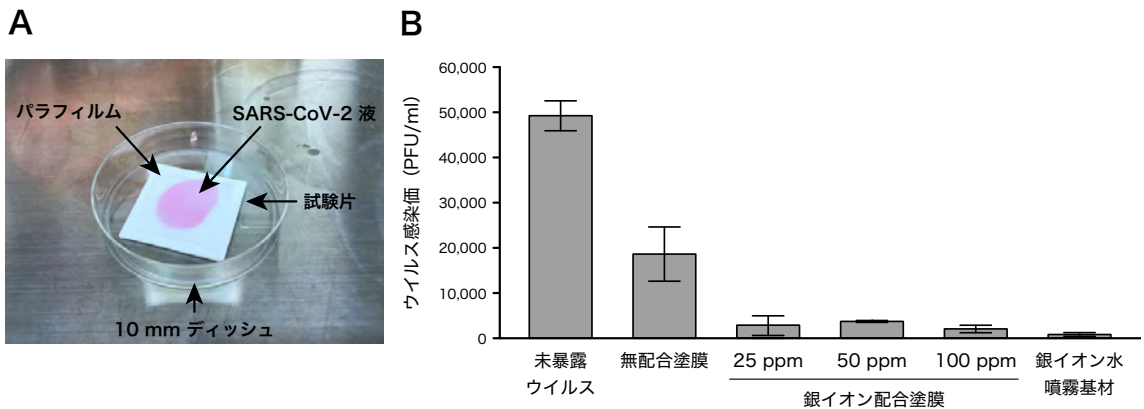


図3 銀イオン配合塗膜表面におけるSARS-CoV-2の不活化 (A)処理方法。25, 50, そして100 ppmの銀イオンを配合した塗料, または銀イオンを含まない(無配合)塗料を塗抹したアクリル片(5 \times 5 cm)状に400 μ LのSARS-CoV-2液を滴下し, その上をパラフィンフィルム(4 \times 4 cm)で被覆した。試験片は, 10 mmディッシュ内に置き, 25°Cで6時間インキュベーションした。(B)6時間処理後のSARS-CoV-2感染価。インキュベーション後のウイルス液は, 5 mLの無血清培地で溶出し, 残存感染価をプラークアッセイ法によって測定した。また, 試験片暴露試験に供しなかったウイルス液(未暴露ウイルス), そして50 ppm銀イオン水を表面に噴霧して乾燥させたアクリル試験片の表面で処理したウイルス液の感染価についても測定した。それぞれの試験は合計4回おこない, 感染価(PFU/mL)の平均を棒グラフで表した。エラーバーは標準偏差(SD)を示す。

と定義付けている²⁵⁾。そして、加工されていない製品の表面と比較し、ウイルスの数が100分の1以下である場合、その製品に抗ウイルス効果があるとしており(ISO21702の試験を実施した場合による²³⁾)、実際に我々の身の回りではSIAA認証を受けた抗ウイルス加工製品が実際に数多く使われている²⁵⁾。製品に抗ウイルス加工を施す場合、抗ウイルス活性をもつ物質を製品の素材に最初に練り込みその後成形する方法と、成形後の製品表面へ抗ウイルス剤を直接付着させる方法がある。しかし、前者の場合は、抗ウイルス剤が成形時の加熱や化学処理などによって変性する可能性を考慮しなければならない。それに対して成形後の表面処理では、抗ウイルス剤の劣化が少なく、また製品の加工も容易であることが挙げられる。本研究では、無機系の抗菌剤として日用品にもよく使われている銀イオンのSARS-CoV-2に対する影響を調べた。その結果、100 ppmの銀イオンを含む水溶液は6時間のインキュベーションによりSARS-CoV-2の感染価を99.9%以上低下させること、そして25 ppmの銀イオンを使用しても同程度のウイルスの不活化を引き起こすことが示された(図1ならびに2)。また、100 ppmの銀イオンを含む水性塗料の塗抹表面に暴露したSARS-CoV-2の感染価は、無配合塗料の表面に暴露したウイルスの感染価の10分の1にまで減少しており、さらに銀イオン水を噴霧しただけの試験片表面でも感染価の大きな低下が確認された(図3)。以上の結果より、銀イオンは接触したSARS-CoV-2を効率よく不活化できることが明らかとなった。

銀イオンが病原ウイルスの感染に対して阻害効果をもつことはすでに知られており²⁰⁾、ゲーベンクリーム[®]の成分として知られるスルファジアジン銀(silver sulfadiazine)は、エンベロープウイルスである単純ヘルペスウイルス1型(herpes simplex virus 1 [HSV-1])や水痘・帯状疱疹ウイルス(varicella-zoster virus)の感染性を低下させることが1986年に報告されている²⁶⁾。また、Kadarらは、0.025から0.1%の過酸化銀(silver-peroxide)を含む溶液が、HSV-1だけでなく、非エンベロープウイルスであるアデノウイルス(adenovirus)やポリオウイルス(poliiovirus)に対して抗ウイルス活性をもつことを明らかにしている²⁷⁾。興味深いことに、Martinez-Abadらは、0.001-1%の銀イオンを含むポリ乳酸(poly lactide)フィルムに滴下されたネコカリシウイルス(feline calicivirus [FCV])の感染価は、100分の1以下にまで減少することを報告している²⁸⁾。FCVは、急性胃腸炎を引き起こす非エンベロープウイルスであるノロウイルス(norovirus)の代替ウイルスとして*in vitro*実験でよく用いられることから²⁸⁾、Martinez-Abadらの報告は、バイオプラスチック

クの一つであるPLAに銀イオンを配合することによって、食中毒の原因ウイルスの不活化を目的とした生活用品の生産を可能にするものである。また、銀イオンは、その抗菌効果を高めるために、ゼオライトに吸着された状態(銀ゼオライト)で用いられることが多く²⁹⁾、PBSに懸濁した銀ゼオライトに普通感冒の原因となるヒトコロナウイルス(human coronavirus)を暴露すると、ウイルスの感染性を有意に低下させることが示されている³⁰⁾。本研究は、遊離した銀イオンを含む水溶液がSARS-CoV-2を不活化することを明らかにしたが、この結果はNishiharaらによる最近の結果と一致している³¹⁾。重要なこととして本研究では、銀イオン含有塗料を塗抹した試験片の表面でもSARS-CoV-2の不活化が引き起こされることを明らかにした(図3)。さらには、SARS-CoV-2は、銀イオン水を噴霧しただけの試験片表面でも不活化されたことから(図3)、そのヒトへの毒性の低さを考慮すると、銀イオンはSARS-CoV-2不活化効果の付与を目的とした表面処理に適した抗ウイルス剤であると考えられる。

銀イオンの抗菌メカニズムについては、銀の触媒によって酸素から変換された活性酸素による細菌の直接的な傷害や、菌体内に取り込まれた銀によるタンパク質合成酵素の不活化などが報告されている^{19) 32) 33)}。しかし、細菌に比べるとウイルスはサイズが小さくウイルス粒子の直接観察が困難であることや、その増殖を細胞に依存するためウイルス特異的な分子の解析が難しいことなどから、銀イオンが示す抗ウイルス活性の基盤となる分子メカニズムについてはまだ完全に解明されていないものの、i) 銀イオンがウイルス粒子のエンベロープに結合することによる細胞への吸着・侵入阻害、そしてii) ウイルスゲノムに結合することによる細胞内での複製阻害が考えられている³¹⁾。本研究では、細胞への感染前に、SARS-CoV-2を銀イオン水や銀イオン含有塗料に暴露し、その処理ウイルスの感染価を測定していることから、銀イオンがSARS-CoV-2粒子に結合し、何らかの機序によってウイルスの細胞への感染を抑制している可能性が高い。そしてこの可能性を支持するように、Rodriguesらは密度汎関数理論(density functional theory)に基づくモデル計算によって、銀イオンはSARS-CoV-2粒子に表出しているSタンパク質のアミノ酸に結合すること、そしてその結合はアミノ酸のカルボキシ基よりもアミノ基に対して親和性が高いことを報告している³⁴⁾。したがって今後は、電子顕微鏡を用いた形態学的観察によって銀イオン処理したSARS-CoV-2の細胞への吸着状態を解析するとともに、不活化ウイルス粒子の構造変化について明らかにする予定である。

緒言で述べたように、生活環境からPCRによって検出

されるSARS-CoV-2 RNAの量は、感染力を有するウイルス量には満たないことが報告されており^{11) - 16)}, それゆえ接触感染対策は簡略化される傾向にある¹⁰⁾。しかし、エタノールなどの消毒剤が使えない状況や、消毒を頻繁におこなわなければならない状況下では、銀イオンによる環境表面処理は依然として有用であろう³⁵⁾。また、銀イオンは、ウイルスや細菌の化学的特性に基づいて普遍的に抗ウイルス活性や抗菌活性を示すことから、今後も出現するかもしれない未知の病原体に対する感染対策としても期待できる。

結 論

本研究では、COVID-19の原因ウイルスであるSARS-CoV-2に対する銀イオンの影響について調べ、SARS-CoV-2の感染性が6時間の銀イオン水処理によって99.9%以上減少することを明らかにした。さらに、銀イオン含有塗料を塗装した表面でも強いウイルス不活化効果が確認されたことから、銀イオンはSARS-CoV-2に対する無機系抗ウイルス剤として有用であることが示された。したがって、現在のCOVID-19流行下では、銀イオン含有素材は生活表面に抗SARS-CoV-2活性付与することによって感染対策の一助となることが期待できる。実際に、銀イオンはノロウイルスやアデノウイルスに対する不活化効果を有することから、米国環境保護庁(United States Environmental Protection Agency)によりSARS-CoV-2に不活化効果をもつNリストに登録されている³⁶⁾。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、保井美紀様(株式会社リテラス)ならびに保井久雄様(ヤスイ塗料株式会社)には、銀イオンのサンプルや情報を供与していただき、実験に関するご助言をいただきました。また、実験では微生物学・感染制御学教室の皆様には様々なご支援をいただきました。この場を借りて心より感謝申し上げます。

文 献

- 1) 白戸憲也. コロナウイルス感染の基礎とSARS-CoV-2. ウイルス 2020;70:155-166.
- 2) Weekly epidemiological update on COVID-19 - 1 February 2023 (Edition 128). <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19--1-february-2023>. 2023年2月14日確認.
- 3) 厚生労働省. 新型コロナウイルス感染症の現在の状況について(令和5年2月3日版). https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_30844.html. 2023年2月14日確認.
- 4) 日本感染症学会 ワクチン委員会・COVID-19 ワクチン・タスクフォース. COVID-19 ワクチンに関する提言(第5版). https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/guidelines/2210_covid-19_5.pdf. 2023年2月14日確認.
- 5) 日本感染症学会. COVID-19に対する薬物治療の考え方(第15版). https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/topics/2019ncov/covid19_drug_221122.pdf. 2023年2月14日確認.
- 6) 山本真也, 山吉誠也, 河岡義裕. SARS-CoV-2変異株と罹患時の臨床的特徴. 臨床と微生物 2022;49:659-664.
- 7) World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19): How is it transmitted?. <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/coronavirus-disease-covid-19-how-is-it-transmitted>. 2023年2月14日 確認.
- 8) Centers for Disease Control and Prevention. Scientific Brief: SARS-CoV-2 Transmission. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/sars-cov-2-transmission.html>. 2023年2月14日確認.
- 9) Chin AWH, Chu JTS, Perera MRA, et al. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. Lancet Microbe 2020;1:e10.
- 10) 日本環境感染学会. 医療機関における新型コロナウイルス感染症への対応ガイド(第5版). http://www.kankyokansen.org/uploads/uploads/files/jsipc/COVID-19_taioguide5.pdf. 2023年3月14日確認.
- 11) Abrahão JS, Sacchetto L, Rezende IM, et al. Detection of SARS-CoV-2 RNA on public surfaces in a densely populated urban area of Brazil: A potential tool for monitoring the circulation of infected patients. Sci Total Environ 2021;766:142645.
- 12) da Silva SJR, do Nascimento JCF, Dos Santos Reis WPM, et al. Widespread contamination of SARS-CoV-2 on highly touched surfaces in Brazil during the second wave of the COVID-19 pandemic. Environ Microbiol 2021;23:7382-7395.
- 13) Fernández-de-Mera IG, Rodríguez Del-Río FJ, de la Fuente J, et al. Detection of environmental SARS-CoV-2 RNA in a high prevalence setting in Spain. Transbound Emerg Dis 2021;68:1487-1492.
- 14) Miyoshi M, Komagome R, Yamaguchi H, et al.

- Environmental Investigation of SARS-CoV-2 in a Karaoke Bar: a Survey for a Cluster of COVID-19 in Hokkaido, Japan, 2020. *Jpn J Infect Dis* 2021;74: 495-497.
- 15) Zhang X, Wu J, Smith LM, et al. Monitoring SARS-CoV-2 in air and on surfaces and estimating infection risk in buildings and buses on a university campus. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2022;32:751-758.
 - 16) Kim MC, Cui C, Shin KR, et al. Duration of Culturable SARS-CoV-2 in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med* 2021;384:671-673.
 - 17) Sun Z, Ostrikov KK. Future antiviral surfaces: Lessons from COVID-19 pandemic. *Sustainable Mater. Technol* 2020;25:e00203.s
 - 18) Nies DH. Microbial heavy-metal resistance. *Appl Microbiol Biotechnol* 1999;51:730-750.
 - 19) 松村 吉信. 銀イオンや銅イオンの抗菌性：作用メカニズムと微生物適応戦略. *化学と教育* 2005;53:288-291.
 - 20) Rakowska RD, Tiddia M, Faruqui N. Antiviral surfaces and coatings and their mechanisms of action. *Commun Mater* 2021;2:1-19.
 - 21) Matsuyama S, Nao N, Shirato K. Enhanced isolation of SARS-CoV-2 by TMPRSS2-expressing cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020;117:7001-7003.
 - 22) Suzuki Y, Hishiki T, Emi A, et al. Strong alkaline electrolyzed water efficiently inactivates SARS-CoV-2, other viruses, and Gram-negative bacteria. *Biochem Biophys Res Commun* 2021;575:36-41.
 - 23) 射本 康夫. 材料の抗ウイルス試験法について. *表面技術* 2021;72:269-272.
 - 24) 深谷 香奈. 抗菌素材の基礎知識. *日本義肢装具学会誌* 2011;27:207-210.
 - 25) SIAA. 抗ウイルスとは. <https://www.kohkin.net/antivirus.html>. 2023年2月14日確認.
 - 26) Montes LF, Muchnik G, Fox CL Jr. Response of varicella zoster virus and herpes zoster to silver sulfadiazine. *Cutis* 1986;38:363-365.
 - 27) Kadar M, Janossy L, Nagy G, et al. Antiviral effect of a new disinfectant containing a silver complex and hydrogen peroxide as active agents. *Wien Mitteil Wasser-Abwasser-Gewaesser* 1993; 112:62-64.
 - 28) Martínez-Abad A, Ocio MJ, Lagarón JM, et al. Evaluation of silver-infused polylactide films for inactivation of Salmonella and feline calicivirus in vitro and on fresh-cut vegetables. *Int J Food Microbiol* 2013;162:89-94.
 - 29) 工藤清孝, 山本桂子, 谷口明男ら. 銀系ゼオライト抗菌剤. *無機マテリアル* 1999;6:492-496.
 - 30) Bright KR, Sicairos-Ruelas EE, Gundy PM, et al. Assessment of the antiviral properties of zeolites containing metal ions. *Food Environ Virol* 2009;1: 37-41.
 - 31) Nishihara Y, Eguchi H, Steve Zhou S. Silver Ion (Ag⁺) Formulations with Virucidal Efficacy against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Nims RW, Ijaz MK, eds. *Disinfection of Viruses*, IntechOpen 2022:1-11.
 - 32) 佐藤嘉洋. 金属材料の抗菌性. *高温学会誌* 2009;35: 121-125.
 - 33) Dakal TC, Kumar A, Majumdar RS, et al. Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles. *Front Microbiol* 2016;7:1831.
 - 34) Rodrigues JSM, Rodrigues AM, do Nascimento Souza D, et al. DFT calculations to investigate silver ions as a virucide from SARS-CoV-2. *J Mol Model* 2021;27:323.
 - 35) Lishchynskiy O, Shymborska Y, Stetsyshyn Y, et al. Passive antifouling and active self-disinfecting antiviral surfaces. *Chem Eng J* 2022;446:137048.
 - 36) United States Environmental Protection Agency. Disinfectant Use and Coronavirus (COVID-19). <https://www.epa.gov/coronavirus/disinfectant-use-and-coronavirus-covid-19>. 2023年2月14日確認.

Inactivation of SARS-CoV-2 by silver ion formulations

Youichi Suzuki, Takashi Nakano

*Department of Microbiology and Infection Control, Faculty of Medicine,
Osaka Medical and Pharmaceutical University*

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), the causative agent of COVID-19, is transmitted to humans through the respiratory tract. Therefore, inactivation of the virus, which is released by sneezing or coughing, is considered an effective infection control measure. In this study, we investigated the virucidal activity of a well-known antibacterial agent, silver ion (Ag^+), in various formulations against SARS-CoV-2. The results showed that when SARS-CoV-2 was mixed with distilled water containing silver ions (silver-ionized water), the infectivity of the virus was reduced by more than 99.9% after 6 hours of incubation. In addition, the infectious titer of SARS-CoV-2 on the surface of an acrylic test piece coated with silver ion-containing paint was reduced to a greater extent than that on the surface of the paint without silver ions. Interestingly, stronger inactivation of SARS-CoV-2 was observed on the surface of the test piece sprayed with silver ionized water and subsequently dried. Our study indicates that silver ion formulations are useful in infection control aimed at preventing the spread of COVID-19 via environmental surfaces.

Key Words: Soft tissue infection, Disseminated Intravascular Coagulation, Sepsis, anorexia nervosa, Munchausen syndrome