

学 位 論 文 要 旨

氏名 Hu Weiyin

題 目 : Virucidal activity of acids and disinfectants against pathogenic viruses
(酸および消毒薬の病原性ウイルスに対する不活化効果の検証)

論文要旨 :

Common disinfectants are typically categorized by their antimicrobial spectrum for public sanitization. A prevailing assumption is that envelope viruses are more sensitive to acids and disinfectants due to lipid membrane, whereas non-enveloped viruses are more resistant because of proteinaceous capsid structure. However, this paradigm is based on limited experimental evidence. This study systematically evaluated enveloped viruses and non-enveloped pathogenic viruses under different acid types, disinfectant formulations, pH level, concentrations, and contact times.

These results are described in three chapters:

Chapter 1: pH-dependent virucidal effects of weak acids against pathogenic viruses.

Weak acids such as acetic, citric, oxalic acids are often considered to show virucidal effects through low pH condition. We assessed virucidal activity of these weak acids under varying pH conditions and common vinegars.

Weak acids were adjusted to pH 2, 4 and 6 and serially diluted from 1 M to 0.001 M. Enveloped viruses of Influenza A virus (FulV) and SARS-CoV-2, and non-enveloped virus of feline calicivirus (FCV) were exposed for up to 30 minutes. White distilled vinegar (WDV) and grain-flavored vinegar (GV) were also tested. Viral titers were quantified and compared in plaque-forming units (PFU/mL).

Acetic acid inactivated FulV at pH 4, whereas citric and oxalic acids did not. Both acetic and citric acids inactivated SARS-CoV-2 at pH 2, while oxalic acid was ineffective. All weak acids inactivated FCV at pH 2 but not at pH 4. Vinegar solutions reduced FulV titers within one minute and reduced SARS-CoV-2 titers within 30 minutes, with limited effect on FCV. Virucidal activity relied on pH and acid components for different viruses.

These results indicate that virucidal efficacy is influenced not only by pH but also by chemical properties. Acetic acid, particularly in vinegar form, shows promise as a household sanitizer against enveloped viruses such as FulV. It highlighted the necessity for further evaluation on antiviral spectrum in disinfectants.

Chapter 2: Virucidal effects of contact lens disinfectants against enveloped and nonenveloped pathogenic viruses causing conjunctivitis.

Non-enveloped virus of Human Adenovirus D serotype 56 (HAdV-D56) and

enveloped virus of SARS-CoV-2 are both reported as causative antigen for conjunctivitis. Contact Lens (CL) contamination could facilitate transmission for viral keratoconjunctivitis among CL users. This chapter evaluated the antiviral efficacy of commercial CL disinfectants.

Cytotoxicity was first assessed in A549 and Vero E6/TMPRSS2 cells to establish detection limits. Viruses reacted to disinfectants according to manufacturer protocols. Viral titers were compared to untreated controls.

Sodium hypochlorite and hydrogen peroxide-based CL disinfectants reduced both SARS-CoV-2 and HAdV-D56 titers below detection limits. Salicylic acid and some polyhexamethylene biguanide (PHMB)-based solutions were effective only against SARS-CoV-2. Disinfectants with ϵ -polylysine, PQ-1, or alexidine hydrochloride showed minimal activity against either virus. Given the prevalence of adenoviruses causing viral conjunctivitis, daily disinfection using effective formulations is strongly recommended for CL users. These findings emphasize the need for targeted testing of ophthalmic disinfectants against viral pathogens beyond bacteria.

Chapter 3: Gastric acid resistances of animal gastrointestinal coronaviruses

Despite of enveloped membrane, coronavirus such as PEDV, TGEV and EcoV cause severe enteric disease in swine and equine. This chapter investigated PEDV, TGEV, EcoV stability in low pH in simulated gastric conditions.

PEDV, TGEV, ECoV, SARS-CoV-2, CVB2 and FulV were exposed to weak acids (1M, pH 2) and simulated gastric fasted-state simulated gastric fluid (FaSSGF) (pH 1.6) for up to 90 mins.

Citric and acetic acids (1 M, pH 2) significantly inactivated PEDV, TGEV, and EcoV. Oxalic acid showed limited efficacy, similar to SARS-CoV-2. Interestingly, SARS-CoV-2 was rapidly inactivated in FaSSGF (pH 1.6), while PEDV, TGEV, and ECoV remained their infectivity for up to 90 mins. Surfactants in FaSSGF did not affect their stability, but pepsin in FaSSGF (pH 1.6) exhibited moderate virucidal activity.

These findings indicate that animal enteric coronaviruses possess unique structural or biochemical adaptations enabling survival in acidic conditions. For neonates with underdeveloped gastric lumen including of low pepsin, high pH level after meal., leading to oral transmission.

Above all, this study demonstrated that virucidal effect depends on the chemical composition, pH, and virus characteristics rather than virus enveloped membrane. Enveloped coronaviruses may possess acid-tolerance membrane structure. These insights highlight the need for further morphological and mechanistic studies to inform effective disinfection strategies in clinical and domestic settings.

学位論文審査の結果の要旨

氏 名	Hu Weiyin
審 査 委 員	主 査：山口大学 教授 早坂 大輔
	副 査：山口大学 教授 佐藤 宏
	副 査：山口大学 教授 谷 健二
	副 査：鹿児島大学 教授 小原 恭子
	副 査：山口大学 准教授 下田 宙
題 目	Virucidal activity of acids and disinfectants against pathogenic viruses (酸および消毒薬の病原性ウイルスに対する不活化効果の検証)

審査結果の要旨：

本研究では、病原性ウイルスを対象に、弱酸、食用酢、コンタクトレンズ洗浄液、胃酸による不活化効果について検証した。

第 1 章 弱酸のウイルスに対する不活化効果の検証

エンベロープウイルスのインフルエンザウイルス (FluV)、SARS-CoV-2、ノンエンベロープウイルスのネコカリシウイルス (FCV) に対する酢酸、クエン酸、シュウ酸の不活化効果を検証した。その結果、pH2 では酢酸とクエン酸はいずれのウイルスに対しても不活化効果を示した。一方、シュウ酸は FluV と FCV に効果を示したが、SARS-CoV-2 への効果は限定的であった。pH4 ではいずれの酸も FluV に効果を示したが、SARS-CoV-2 と FCV への効果は限定的であった。pH6 ではいずれの酸も効果は限定的であった。

また、食用酢 (2 種の穀物酢) による不活化効果を検証した結果、いずれの酢も FluV には効果を示したが、SARS-CoV-2、FCV への効果は限定的または効果がなかった。

これらの結果から、同じ pH でも、酸、ウイルス種によって弱酸による不活化効果が異なることが示され、酸による不活化機序の解明に有用な情報となった。

第 2 章 コンタクトレンズ洗浄液の結膜炎ウイルスに対する不活化効果の検証

ヒトアデノウイルス (HAdV) や SARS-CoV-2 は、ウイルス性結膜炎の原因となるため、コンタクトレンズの洗浄は感染リスクを抑える上で必須となる。そこで、コンタクトレンズ洗浄液による HAdV-D56 (ノンエンベロープウイルス) 及び SARS-CoV-2 (エンベロープウイルス) に対する不活化効果の検証を行った。

その結果、Progent、Progent ip1、Progent ip2 (次亜塩素酸ナトリウム)、AO sept Clear Care、Clear Care Plus、Hydraglyde、Meni-Sept、Smart clean (過酸化水素) は、両ウイルスに対して十分な不活化効果を示した。また、O2 care aminosora (ポリヘキサメチレンピグアナイド) は SARS-CoV-2 に対して効果を示したが、HAdV-D56 への効果は限定的であった。Four seasons care (サリチル酸)、Bloom care、Menicare Plus、Cleadew repair solution、Solocare Aqua、Epica cold (ポリヘキサメチレンピグアナイド)、Menicare Pure (ϵ -ポリリジン)、Unique Ph (ポリクオタニウム-1)、を成分とする cleadew procare solution (アレキシジン、ポリヘキサメチレンピグアナイド)、Acuvue Revitalens (アレキシジン二塩酸塩、ポリクオタニウム-1) の両ウイルスに対する効果は限定的もしくはみられなかった。

これらの結果から、洗浄液の種類により、結膜炎ウイルスの不活化効果に違いがあることが示され、汚染リスクを減らす有用な情報となった。

第 3 章 動物コロナウイルスの胃酸に対する抵抗性の検証

豚流行性下痢ウイルス (PEDV) や伝染性胃腸炎ウイルス (TGEV) は、経口感染により、幼豚に胃腸炎症状を起こす。そこで、PEDV、TGEV、ウマコロナウイルス (ECoV)、SARS-CoV-2、FuIV (エンベロープウイルス)、コクサッキーウイルス B2 (CVB2) (ノンエンベロープウイルス) を対象に、胃酸成分による不活化の検証を行った。

胃酸に模した人口胃液 (FaSSGF) による各ウイルスに対する不活化を検証したところ、SARS-CoV-2 と FuIV に対しては効果がみられたが、PEDV、TGEV、ECoV への効果は限定的で、CVB2 への効果はなかった。サーファクタントを含む人口胃液 (FaSSGF surfactant) の効果も FaSSGF と同様であった。ペプシンを加えた人口胃液 (FaSSGF pepsin) では、PEDV、TGEV、SARS-CoV-2、FuIV に対して不活化がみられ、CVB2 は不活化されなかった。

これらの結果から、PEDV、TGEV、ECoV はエンベロープウイルスであるにも関わらず、胃酸に抵抗性を有することが示唆された。また、胃液中のペプシン等の消化酵素が未発達の幼獣では経口感染が起きやすいことが示唆され、豚コロナウイルスの経口感染の機序解明に有用な情報となった。

以上の研究により、異なるウイルスに対する酸、消毒薬、胃酸による不活化効果が示され、不活化の機序解明や予防に関する有用な情報が得られた。

以上により、本論文は博士 (獣医学) の論文として、妥当なものであると判断された。