〈報 告〉

ウイルス不活化効果を標榜する二酸化塩素ガス放散製剤の実用性の有無の検証
—冬季室内相当の温湿度での空中浮遊インフルエンザウイルスの不活化について—

西村 秀一

Evaluation of the Authenticity of Practical Usefulness of a Commercial Chemical Product that Claims the Virucidal Ability by Releasing Gas of Chlorine Dioxide: Investigation on Inactivation of Air-Borne Influenza Virus under a Room Temperature and Humidity of the Winter Season

Hidekazu NISHIMURA

Virus Research Center, Clinical Research Division, Sendai Medical Center, National Hospital Organization

(2016年5月10日 受付・2016年6月8日 受理)

要 旨

据え置き芳香剤の剤形で二酸化塩素ガスを逐次空中に放散させ、抗ウイルス効果を標榜する製品の有用性を検証した。冬季の生活空間を想定し室温 23℃、相対湿度 30%に設定した 1.8 m³ の密封チャンバー内で製品を開封し、試験中ガス濃度を 0.03 ppm を目標として蓋の開閉で調整し、結果的に実験時間中はほぼ 0.035–0.04 ppm の濃度に維持できた。その中に鶏卵由来の A/愛知/2/68 株インフルエンザウイルスを含むしょう尿液をネブライザーでミスト化して噴霧し、一定時間後にチャンバー内空気 80 L をゼラチン膜でろ過し、膜に捉えたミスト粒子中の活性ウイルス量を測定し、同製品による空中浮遊インフルエンザウイルスの不活化効果をみた。その結果、今回の実験条件化では、ガスへの曝露を受けた空間での活性ウイルスの量は対照のそれと変わらず、不活化効果は確認されなかった。

二酸化塩素ガスによる殺菌、ウイルス不活化の感染制御の実用化のためには、今後さまざまな条件の下でその殺菌/ウイルス不活化効果の有無を検証していく必要がある。

Key words : 二酸化塩素ガス, 空中浮遊, インフルエンザウイルス, 不活化, 冬季実生活空間

はじめに

市中には抗菌、抗ウイルス効果を標榜する製品が数多く出回っているが、それらの実生活空間での効果については中立的検証がなされていないものが多い。

我々は、これまで空中浮遊イオンや特殊粒子の放散によって空中浮遊インフルエンザウイルスや環境表面上の細菌に対する不活化/殺菌効果を標榜する電気製品に実用性がほとんどなかったことを報告してきた^{1–3)}。近年、据え置きボトル型芳香剤の剤形で二酸化塩素(以下 ClO₂)ガスを逐次微量空中に放散させ、同様の効果を標榜する複数の製品が市販されており、感染制御に用いよ

うとする医療現場から、その効果についての問合せも多い⁴⁾。ガス物質としての ClO₂ は、細菌やウイルスの殺菌/不活化に有用であるが、それは適切な濃度等の条件下で使用されることが前提である⁵⁾。この種の製品については国民生活センターも注目している⁶⁾が、これまで検証されたのはガスの放散濃度と安全性であり、実際の生活空間あるいはそれに近い条件での殺菌/ウイルス不活化効果の有無についての中立的検証報告は、皆無であった。インフルエンザ様疾患に対する介入予防試験で効果があったとの報告はあるものの^{7,8)}、介入と非介入の割り振りが不十分かつ介入期間が生活時間の一部に過ぎず、測定した介入環境の ClO₂ ガス濃度も不明あるいは測定していても 0.005 から 0.020 ppm という極めて低く、結果の解釈には注意が必要である。

独立行政法人国立病院機構仙台医療センター臨床研究部ウイルスセンター

本研究で我々は、実際に冬の室内温度・湿度環境に近い密閉空間を設定し、その中で、対象となった製品が果たして空中を浮遊するインフルエンザウイルスの不活化に有効か否かを検討した。

材料と方法

この種の製品は、本邦では2010年の時点で9社の企業が製品を販売していたが⁶⁾、今回はその中で最大手の製品でありかつ比較的空中の CLO_2 濃度が安定しており、また自社による種々の実験論文ならびに使用報告が出ているクレベリンG(大幸薬品株)をとりあげた。

家庭の小さなトイレの容積を想定した 1.8 m^3 ($2\text{ m} \times 0.5\text{ m} \times 1.8\text{ m}$)の密封ビニルチャンバー内を、温帯地域におけるインフルエンザ流行期である冬の室内を想定した 23°C 、相対湿度30%にしたのち同製品を開封し、ゲル剤中に溶液として含まれる CLO_2 の揮発・ガス化を促進する目的で小型電気扇風機で開口口に送風し、空間の濃度をインタースキャン社(CA, USA)の二酸化塩素測定器 Model4330-1000bを用いて測定しつつパスボックス越しに手で蓋を開閉させ、試験時間中濃度をほぼ一定に調整した。

空中浮遊ウイルス実験は、以前の報告にあるとおり、材料をひとつの実験室株ウイルスに代表させて行った¹⁾。まず、発育鶏卵しょう尿膜腔で増殖させたA/愛知/2/68(H3N2)株インフルエンザウイルス液(1×10^7 Plaque Forming Unit (PFU)/mL)を実験空間内でネブライザー(オムロン社製 NE-C16)で2分間噴霧し、液体容量にして $2.3 \pm 2\text{ mL}$ 相当をミスト状に浮遊させた。そして噴霧後3分、12分と23分後にゼラチン膜フィルター(ザルトリウス社)をセットしたチャンバー内の吸引ポンプを用いて、2分間かけてチャンバー内空気80 Lを吸引してそこに含まれるウイルス含有ミストを

濾過採取した。その後フィルターを 37°C の培養液で溶解し、そこに回収された活性ウイルス量をMDCK細胞を用いたプラーク法で測定しウイルス不活化効果を評価した。ただし、今回は、ゼラチン膜への CLO_2 の吸着による影響がある可能性を極力低くするために、フィルターの設置はパスボックス越しに吸引開始直前に行った。

結 果

本実験では、濃度目標を0.03 ppmに設定した。これは、Ogataらがマウスを用いた感染防御実験論文⁹⁾の中で、対照群に比べて有意にマウスの死亡を防いだと報告した濃度であり、またこれ以上の濃度では同ガス特有の臭いに対して不快感を持つ人も多いことが容易に予想されるからであり^{6,10)}、実用可能としてもそこが濃度の限界であろうと考えたからである。空間容積が 1.8 m^3 と狭くなってしまったのは、我々がそれまで通常実験に使っていた 14.4 m^3 以上の空間¹⁾では、この製品で目標とした空間濃度を得るのに半日以上もの時間が必要であったためである。また小型ファンを用いたのは、揮発を促進するためであり、それなしではこの狭い空間でさえもなかなか目標濃度が達成されず2時間の時間を要したからである。手動で調整したのは、小型ファンでの強制揮発では蓋を開放したままでは、同空間における濃度の実測値が、開放後20分、40分、60分、80分で、それぞれ約0.7, 0.1, 0.115, 0.120 ppmと米国労働安全局が定めた長時間暴露許容レベル0.1 ppm¹⁰⁾を超える非現実的な濃度にまで上昇したためである。これにより、試験中は変動を伴いつつも $0.035 \pm 0.005\text{ ppm}$ を維持することができた(図1)。

こうした工夫の下、空中浮遊インフルエンザウイルスの不活化の実験を実施した。図2は、その成績をウイルス空中放出直後に回収される活性ウイルス量を1とし

図1 検証対象品から放出された二酸化塩素ガスの空間濃度
チャンバー内濃度0.03 ppmを目標に製品の蓋の開閉により調整して得られた、実際の濃度の時間的推移

図2 冬季の室内環境を模した環境中における空間浮遊インフルエンザウイルスの不活化

気温 23°C 相対湿度 30%，検証対象品による二酸化塩素ガス濃度実質約 0.035 ppm の容積 1.8 m³ の密閉チャンバー内で，鶏卵しょう尿膜腔由来の A/愛知/2/68 株ウイルス液を噴霧させ，空中浮遊ウイルスの時間経過による不活化の推移を調べた

たときの各時間に回収されたそれを縦軸に，時間経過を横軸にグラフとして示したものである．なお，ウイルスの回収量の絶対値が，実験を実施した時間範囲内では，ウイルスが回収された時間にかかわらずほとんど変わらないことは，ゼラチン膜に回収されたウイルスの遺伝子量のリアルタイム PCR による測定で確認している (data not shown)．結果的に，23°C，相対湿度 30% の実験条件下， 0.035 ± 0.005 ppm の ClO_2 ガス曝露実験空間から回収された活性インフルエンザウイルスの量は，ガスなしで自然減衰しつつ回収された対照のそれとほとんど変わらなかった．すなわち，本実験条件下では，本製品による空中浮遊インフルエンザウイルスに対する不活化効果の効果は，確認されなかった．

考 察

以前の報告でもそうであるが，実験が最大 20 分間の曝露実験となったのは，そもそも空中を浮遊しているインフルエンザウイルスが活性を維持している時間がそう長くないためであり¹⁾，長時間の ClO_2 ガスの介入は実験上無意味と考えられたからである．本研究によって，少なくともインフルエンザが流行する冬季の室内生活空間を想定した空間容積・温度・湿度環境下では，今回用いられた 0.035 ppm 程度の ClO_2 ガスには，空中浮遊するインフルエンザウイルスに対する不活化作用はほとんどないことが明らかになったが，そこまでに至らない濃度条件下でも不活化作用がないと判断することについては，自明のことと思われる．

Morino らが主張する低濃度 ClO_2 ガスの効果の根拠となっているものは，インフルエンザウイルスでは気相

のウイルスではなくウイルスを含む液滴での成績¹¹⁾であり，Ogata らの気相での実験は，インフルエンザウイルスではなく細菌ウイルスであるバクテリオファージでの成績¹²⁾である．

だが一方で，彼らはマウスを用いた感染防御実験論文⁹⁾の中で，今回我々が用いた 0.03 ppm の ClO_2 ガスが対照群に比べて有意に死亡を防いだと報告している．我々の結論と Ogata らの成績の矛盾については，今後さまざまな実験の繰り返しと論理的思考によって説明をつけていく必要があるだろう．

今回とりあげた製品に限らず，ゲル剤から揮発で生じさせた ClO_2 ガスによる殺菌，ウイルス不活化を標榜し，またそれによって一般的に薬事法に抵触しない範囲の表現で感染の阻止の効能を謳う製品は多い⁶⁾．それらについては，安全性などに配慮した使用条件を明確化させることが課題であろう一方で， ClO_2 ガスを感染制御に使おうとするならば，その殺菌/ウイルス不活化効果の有無について今後，さまざまな条件下で検証していくことが，使用のための大前提となるだろう．

謝 辞：この場をお借りして，本研究に協力してくれた仙台医療センター臨床研究部ウイルスセンターの職員と客員研究員諸氏に深謝いたします．

利益相反自己申告：申告すべきものなし．

文 献

- 1) 西村秀一：高性能の空中浮遊インフルエンザウイルス不活化を謳う市販各種電気製品の性能評価．感染症誌

- 2011; 85: 537-9.
- 2) 西村秀一：殺菌能力を謳う各種空気洗浄電気製品の、塗布乾燥状態の細菌に対する効果の有無の検証。環境感染誌 2012; 27: 342-5.
 - 3) 西村秀一：殺菌性能を有する空中浮遊物質の放出を謳う各種電気製品の、寒天平板培地上の細菌に対する殺菌能の本体についての解析。感染症誌 2012; 86: 723-33.
 - 4) 尾家重治：二酸化塩素ガスによる環境消毒の是非、滅菌・消毒、質疑応答。医事新報 2008; 4385: 98.
 - 5) US EPA: Anthrax spore decontamination using chlorine dioxide: <http://www.aquamira.com/wp-content/uploads/2015/05/anthrax-spore-decontamination-using-chlorine-dioxide-pesticides-us-epa.pdf>. accessed April 19, 2016.
 - 6) 国民生活センター：二酸化塩素による除菌をうたった商品一部屋等で使う据置タイプについて： http://www.kokusen.go.jp/news/data/n-20101111_1.html 2010年11月11日現在
 - 7) 三村啓司, 藤岡高弘, 三丸敦洋：二酸化塩素放出薬のインフルエンザ様疾患に対する予防効果。環境感染誌 2010; 25: 277-80.
 - 8) Ogata N, Shibata T: Effect of chlorine dioxide gas of extremely low concentration on absenteeism of school children. Int J Med Medical Sci 2009; 1: 288-9.
 - 9) Ogata N, Shibata T: Protective effect of low-concentration chlorine dioxide gas against influenza A virus infection. J Gen Virol 2008; 89: 60-7.
 - 10) US Department of labor: OSHA Chlorine dioxide: https://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_226600.html. accessed April 19, 2016.
 - 11) Morino H, Fukuda T, Shibata T: Effect of low-concentration chlorine dioxide gas against bacteria and viruses on a glass surface in wet environment. Letters Appl Microbiol 2011, 53: 628-34.
 - 12) Ogata N, Sakasegawa M, Miura T, Shibata T, Takigawa Y, Taura K, *et al.*: Inactivation of airborne bacteria and viruses using extremely low concentration of chlorine dioxide gas. Pharmacology 2016; 97: 301-6.
- 〔連絡先：〒983-8520 仙台市宮城野区宮城野 2-8-8
 仙台医療センター・ウイルスセンター 西村秀一
 E-mail: hide-nishimura@mte.biglobe.ne.jp〕

Evaluation of the Authenticity of Practical Usefulness of a Commercial Chemical Product that Claims the Virucidal Ability by Releasing Gas of Chlorine Dioxide: Investigation on Inactivation of Air-Borne Influenza Virus under a Room Temperature and Humidity of the Winter Season

Hidekazu NISHIMURA

Virus Research Center, Clinical Research Division, Sendai Medical Center, National Hospital Organization

Abstract

Reliability of a commercially available chemical product sold in Japan that claims to inactivate viruses by releasing chlorine dioxide gas was investigated. The viral fluid of influenza A/Aichi/2/68 strain virus propagated in the allantoic fluid of fertilized chicken eggs was atomized by a nebulizer in a 1.8 cubic meter-space closed environment, with the temperature and relative humidity set at about 23°C and 30%, respectively, which resemble room conditions during the winter season. The concentration of the gas was manually adjusted at about 0.03-0.04 ppm by opening and closing the bottle cap. After a specified time, 80 L of air was sampled and filtered through a gelatin filter to trap the aerosol which contained the virus, and the amount of the active virus was titrated by plaque assay. The amount of active viruses was similar in both the gas-exposed air and the control air, indicating that the gas had no inactivating properties under these conditions. Validating the bactericidal and virucidal abilities under various conditions is essential before applying such a material to actual infection control.

Key words : chlorine dioxide, airborne, influenza virus, inactivation, winter season