〈報 告〉

二酸化塩素ガス放散製剤のインフルエンザウイルス不活化および 黄色ブドウ球菌殺菌能の検証—低湿度環境表面での検討—

西村 秀一

Evaluation of Virucidal and Bactericidal Abilities Claimed to Be Exhibited by a Chemical Product against Influenza Virus and Staphylococcus aureus on the Environmental Surface under Low-humidity Condition

Hidekazu NISHIMURA

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

(2017 年 1 月 10 日受付・2017 年 2 月 27 日受理)

要 旨

ウイルスの不活化や殺菌効果を標榜する、据え置き芳香剤型の剤型で二酸化塩素ガスを放散させる製品の、環境表面上の病原体に対する同効果の有無を検証した。本邦の冬の生活空間を想定した室温 20℃、相対湿度 25% の密閉空間を、製品から放出されたガス濃度が 0.03 ppm になるよう調整した。その中に、スライドグラスの上に一定量の A 型インフルエンザウイルス溶液あるいは *Staphylococcus aureus* 菌液を滴下し短時間で自然乾燥したものを置き、2 時間後に回収し一定量のメディウムで洗い流し、活性ウイルス量や生菌数を測定した。その結果、当該条件下でガスの曝露を受けた検体での活性ウイルス/生菌量は、曝露のない対照のそれと変わらなかった。

Key words : 二酸化塩素ガス, 環境表面, ウイルス不活化, 殺菌, 冬季生活空間

はじめに

抗菌、抗ウイルス効果を標榜する種々の製品が市販されている。だが、それらは、実用上その効果が中立的に検証され証明されていないことが多い。我々は、これまで空中浮遊イオンや特殊粒子の放散により空中浮遊インフルエンザウイルスに対する不活化を標榜するいくつかの電気製品について実際の効果の有無を検証し、標榜されているような能力がほとんどないことを報告してきた¹⁾。さらに先行研究で我々は、二酸化塩素（以下 ClO_2 ）を空中に放散させ、空中浮遊インフルエンザウイルスに対する不活化の効果を標榜する据え置きボトル型の薬剤についても検証し、その結果、本邦でインフルエンザが流行する冬季の生活空間あるいはそれに近い温湿度条件下では、製品から出される ClO_2 に空中に浮遊させたインフルエンザウイルスに対して、生活に支障ないと思われる濃度以下では不活化効果が認められなかったことを、

報告している²⁾。

この種の製品に関しては、ときに行政が消費者に対する不利益を警告している³⁾ にもかかわらず、医療現場からの感染制御に使えないかという問いあわせ⁴⁾ も、少なからずある。そうした現場での感染制御においては、手洗いが強く推奨されているのはもちろんのこと、それとならんで環境消毒も重要な位置を占めている。今回我々は、患者の咳あるいはクシャミに由来する落下し環境に付着した大飛沫を想定し、そのモデルとしてインフルエンザウイルスを含む液滴を、また環境に普通に存在する細菌としての *Staphylococcus aureus* を含む液滴を、スライドグラスに滴下し、それらの乾燥残渣を、冬季の生活空間あるいはそれに近い温湿度条件下の密閉空間で当該製品の出す ClO_2 に曝露させ、ウイルス不活化/殺菌効果の有無を検証したので、その結果を報告する。

材料と方法

この種の製品で一般に入手可能なものは、2010 年の時点で 9 社の製品があったが³⁾、今回も前回の報告同様、

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

図1 実験空間の温度と相対湿度環境，ならびに二酸化塩素ガス濃度
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えられた実際の濃度とチャンバー内で測定された温度と相対湿度の時間的推移

それらの中の最大手で，自社による種々の実験論文⁵⁾やその使用に基づく感染制御の報告^{6,7)}等の発表が多数なされているクレペリンGゲル60g(大幸薬品)を検証に用いた。

人工的に温度や湿度を調整するための容積25 m³の密閉クリーンブースの中を，冬季の室内を想定した温度20℃，相対湿度23%を目標に調整し，その中で同製品を開封し，試験中の同空間内のClO₂濃度を0.03 ppmに維持することを目標に，ClO₂測定器(インタースキャン社(CA, USA)モデル4330-1000b)で濃度をモニターしつつ，必要に応じてパスボックス越しに製品の蓋を開閉させるやり方で，手動調整した。

ウイルスは，先行報告と同じく材料をひとつの実験室株ウイルスに代表させ^{1,2)}，発育鶏卵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を含むしょう尿液(蛋白質濃度1wt%)を用いた。一方，細菌の方は，ごく一般的に環境中に存在する細菌である*Staphylococcus aureus*の，当研究室で保存している実験用ストックを用いた。

ウイルス液を0.5 μLずつ2滴(約1×10⁶ Plaque Forming Unit (PFU)相当)をスライドグラス上に滴下させそのまま乾燥した残渣を実験空間内で2時間経過させた後，1 mLのウイルス培養用MEMメディウムとラバーポリスマンを用いて洗い流し，回収した洗い液中の活性ウイルス数を，MDCK細胞を用いたプラーク法で定量した。また，*Staphylococcus aureus*のブイヨン溶液を0.5 μLずつ4滴(約2×10⁶ Colony Forming Unit

相当)スライドグラス上に滴下しそのまま乾燥した残渣を実験空間内に置き，2時間経過後に1 mLの細菌培養メディウム(Q-Bio gene社製CircleGrow)とラバーポリスマンを用いて洗い流し，回収した洗い液中の生存細菌数を，普通寒天平板上に形成されるコロニーの数を指標に測定した⁸⁾。

結 果

本実験は，インフルエンザの流行期である冬季の，暖房された小さな室内を想定した容積25 m³の密閉空間で実施した。実験空間の実際の気温，相対湿度はそれぞれ20.0-21.0℃，23.0-28.0%の範囲であった(図1)。同製品は，開封直後はガスが出にくく，約半日25 m³チャンバー内に蓋を全開にした状態で放置した後にやっとガスの放出が安定し始め，その後2時間で空間濃度0.03 ppmに達した。その時点で実験を開始し，その後実験時間中，それに近いレベルを維持することができた(図1)。

環境表面上に落ちたウイルス飛沫を想定してスライドグラス上に滴下したウイルス液乾燥残渣を上述空間で製品由来のClO₂のガスに2時間曝露後，1 mLのメディウムで洗い出された活性ウイルスの数を測定した。その結果，対照では滴下した約1×10⁶ PFUのウイルスのうち約10%にあたる7.5×10⁴ PFUの活性ウイルスが回収された。その一方，0.03 ppmのClO₂ガスへ曝露を2時間経たしたもの，回収された活性ウイルス量はガス非曝露対照のそれと変わらなかった(表1)。

環境表面に存在する細菌を代表して，通常的环境で普

表1 環境表面付着ウイルス/細菌に対する、冬季室内環境相当温度・相対湿度条件下での、0.03 ppm 二酸化塩素 2 時間曝露の影響の有無の検討

ウイルス*1/細菌*2	滴下量	回収量*3	
		対照	曝露後
*1Influenza virus A/愛知/2/68 (PFU) × 10 ⁴	9.2 × 10	7.5 ± 1.7	7.5 ± 1.6
*2Staphylococcus aureus (colony count) × 10 ⁶	2.8	2.0 ± 0.7	1.6 ± 0.7

*3 独立した 3 回の実験の平均値 ± 標準偏差

通に見られる *Staphylococcus aureus* の浮遊液をグラス上に滴下し、同様の実験を行った。その結果、暴露 2 時間後の *Staphylococcus aureus* の回収量も、対照とほとんど同じであった (表 1)。

考 察

本実験における ClO₂ への曝露時間は、空中浮遊ウイルスでの実験²⁾ よりも長い 2 時間に設定した。これは、活性を保っているタイムスパンの短い空中浮遊状態のウイルスにくらべて、環境表面付着状態のウイルスや細菌の方が、より長い時間、活性が維持され、あるいは生存するためであった。また環境における存在の仕方とその制御を考えた場合にも、汚染から極めて短かい時間ではなく、長い時間を想定すべきと考えたためでもある。

一方、ClO₂ の空間濃度については、先行実験と同じ 0.03 ppm に設定した²⁾。これは、Ogata らがマウスを用いた感染防御実験論文³⁾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ている濃度であり、またこれ以上は同ガス特有の臭いに不快感を持つ人も多く³⁾、これが実用の上での濃度限界と考えられたからである。

ClO₂ はガス状の物質であるが、それが水に溶けた溶液にはラジカルによる酸化効果があり、細菌やウイルスの殺菌/不活化に有用であることが知られており、ガス状の ClO₂ にもその作用が期待されている⁹⁾。だが、それらの効果を発揮するためには、濃度を含む適切な条件のもとで使用される必要がある⁹⁾。

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温度・湿度環境下では、使用された程度の低濃度 ClO₂ ガスには、環境表面上に付着した状態のインフルエンザウイルスの不活化や黄色ブドウ球菌に対する殺菌の効果は、ほとんどないことが明らかになった。0.03 ppm で効かないものは、それ以下の濃度でも効かないのは自明であろう。先の我々の、空中浮遊ウイルスに対してまったく効果がないとした報告とあわせれば、冬の室内環境のような使用環境では、空中浮遊あるいは環境表面付着のいずれの形でのウイルスの存在に対しても、当該製品がつくり出す 0.03 ppm 程度の濃度での ClO₂ には、謳われている効果はほとんど期待できないことが示されたことになる。

一方、本製品の感染制御への応用として紹介されるこ

との多い Ogata ら⁶⁾ および三村⁷⁾ らによるインフルエンザ様疾患に対する介入予防試験では、感染防止効果があったとされている。だがこれらはともに、製品を用いた介入群と対照の非介入群の参加者に関し、さまざまな生活背景を考慮した公平な割り振りが厳密になされておらず、また、介入期間も生活時間のごく一部に過ぎず、生活の大半を占める非介入時間におけるインフルエンザウイルスへの曝露の影響の方が介入時間におけるそれよりずっと大きいと思われるスタディであった。さらに介入した環境のガス濃度のデータも、論文には記載がないものの極めて低いことは容易に推測され、何らかの交絡現象を見ているものと推察せざるを得ない。今回とりあげた製品に限らず、揮発で生じさせた ClO₂ による殺菌やウイルス不活化を標榜し、またそれによって感染の阻止の効能を示唆・宣伝する製品の効果の一方的説明については、読み手側の注意が必要であろう。それとともに、中立的立場から科学的に十分に吟味された検証をつけていくことも、大事であろう。

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：ウイルス不活化効果を標榜する市販据置き型二酸化塩素ガス放散製剤の、冬季室内空間相当の温湿度での空中浮遊インフルエンザウイルス不活化の実用性の有無の検証。環境感染誌 2016; 31: 310-3.
- 3) 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：2016 年 11 月 11 日現在。
- 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。日本医事新報 2008; 4385: 98.
- 5) Ogata N, Shibata T: Protective effect of low-concentration chlorine dioxide gas against influenza A virus infection. J Gen Virol 2008; 89: 60-7.
- 6) 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.

- 7) 三村啓司, 藤岡高弘, 三丸敦洋: 環境感染誌 2010; 25: 277-80.
- 8) 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.
- 9) US Department of labor: OSHA Chlorine dioxide: https://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_226600.ht

ml. accessed April 19, 2016.

[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 Virucidal and Bactericidal Abilities Claimed to Be Exhibited
by a Chemical Product against Influenza Virus and Staphylococcus aureus
on the Environmental Surface under Low-humidity Condition***

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 has been claimed to inactivate viruses and kill bacteria on the environmental surface by releasing chlorine dioxide gas was investigated.

The aliquots of the viral fluid of influenza A/Aichi/2/68 strain virus propagated in the allantoic fluid of fertilized hens' eggs and the bacterial fluid of *Staphylococcus aureus* stock solution were poured on a glass slide as two and four droplets of 0.5 μ L each, respectively, and placed in a 25 m³-space closed environment, with the temperature and relative humidity set at about 20°C and 25%, respectively, which resemble room conditions during the winter season. The concentration of the gas was manually adjusted at about 0.03 ppm by opening and closing the bottle cap. After 2 h, the dried-up remains of the droplets on the glass were washed out with 1 mL of viral culture medium or bacterial broth, and the amounts of the active virus and the living bacteria in the washing fluid were titrated using plaque or colony assays, respectively. The amounts of the active viruses and living bacteria were similar in the washing fluids from both the gas-exposed and the control slides, indicating that the gas had no virucidal and bactericidal activities under these conditions.

Key words: Chlorine dioxide, environmental surface, virucidal activity, bactericidal activity, winter season