

Megakadályozhatja-e a klór-dioxid a koronavírus vagy más vírus okozta járványokat? Orvosi hipotézisek

KÁLY-KULLAI KRISTÓF¹, WITTMANN MÁRIA¹, NOSZTICZIUS ZOLTÁN¹
és ROSIVALL LÁSZLÓ^{2*}

¹ Fizika Tanszék, Kémiai Fizika Csoport, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Budapest

² Kórélettani Intézet, Nemzetközi Nephrológiai Kutató- és Képző Központ, Semmelweis Egyetem, Budapest

Physiology International 107 (2020) 1, 1–11

DOI: 10.1556/2060.2020.00015

Online megjelenés: 2020. március 31.

* Levelező szerző: prof. Rosivall László, MD, PhD, DSc, FERA, FAPS, Kórélettani Intézet, Nemzetközi Nephrológiai Kutató- és Képző Központ, Semmelweis Egyetem, Budapest, Nagyváradi tér 4., H-1089, Magyarország
Tel / Fax: 36-1-2100-100
e-mail: rosivall.laszlo@med.semmelweis-univ.hu

BEVEZETÉS

Motiváció

A vírusok sok járványt okoztak már az emberiség története során. Az új koronavírus [10] csak a legújabb példa. Egy új vírusjárvány kitörése kiszámíthatatlan, és az új vírus elleni speciális védelmi eszközök és ellenintézkedések kifejlesztése időigényes, még a modern orvostudomány és a technológia mai korszakában is. Hatékony és specifikus gyógyszerelés vagy vakcina hiányában kívánatos lenne, hogy legyen egy nem-specifikus protokoll vagy anyag, amely a vírust inaktíválja, egy olyan protokoll, amelyet bárhol és bármikor, egy új vírus okozta járvány kitörése esetén alkalmazni lehet. Ez különösen fontos olyan esetben, amikor a megjelenő új vírus olyan fertőző, mint a SARS-CoV-2 [4].

A jelen közlemény célja és felépítése

Ebben a szerkesztőségi cikkben megfontolásra javasoljuk nagytisztaságú vizes klór-dioxid (ClO₂) oldat alkalmazásán alapuló vírusellenes protokoll kidolgozását és megvalósítását. A javaslat célja, hogy olyan kutatást kezdeményezzen, amely elvezet egy hatékony antivirális protokoll kifejlesztéséhez.

E célból először áttekintjük a ClO₂ molekula azon néhány fontos tulajdonságát, amelyek azt kedvező vírusellenes szerré teszik, majd átnézzük a ClO₂ gáz néhány korábbi, vírusellenes alkalmazásának eredményét. Végül olyan módszereket javasolunk, amelyek elvileg képesek lehetnek a vírusfertőzések megállítására vizes ClO₂ oldatok segítségével.

KORÁBBI TAPASZTALATOK, ÉS A ClO₂ VÍRUSELLENES SZERKÉNT VALÓ HASZNÁLATÁNAK HÁTTERE

A vírusok inaktiválása vizes fázisban lévő ClO₂-dal

Jelenlegi tudásunk szerint a ClO₂ vizes oldata képes inaktiválni minden fajta vírust. A fertőtlenítőszerket (vizes fázisban) CT-értékeik alapján hasonlítják össze, amely a (mg/l-ben mért) koncentrációjuk (C) szorozva a (percben mért) behatási (kontakt) idővel (T). A CT táblázatokban a ClO₂-ot a vírusok ellen általánosan javasolják, kivételek említése nélkül. Például a [6] szerint 8,4 mg×perc/l CT-érték szükséges ahhoz, hogy négy nagyságrendnyi („4 log” vagy „99,99%”) inaktiválást érjünk el vizes közegben, 25 °C-on.

A vírus inaktiválásának kémiai mechanizmusa: a ClO₂ reakciója aminosav-maradékokkal

Noss és munkatársai [19] 1986-ban bizonyították, hogy az f2 bakteriális vírus ClO₂ általi inaktiválásának oka az, hogy a klór-dioxid reagál a vírus kapszid fehérjékkel. A vírus RNS-ének inaktiválása viszont szinte alig történt meg, amikor azt külön kezelték ClO₂-dal [8]. Azt találták [19], hogy különösen a vírusfehérje három alkotóeleme, nevezetesen a cisztein, tirozin és triptofán aminosav-maradékok voltak képesek gyorsan reagálni a ClO₂-dal. 1987-ben Tan és munkatársai [28] vizsgálták a ClO₂ reakciókészségét 21 szabad aminosavval. A ClO₂ 0,1 M nátrium-foszfát pufferben oldva, 6,0-os pH-nál csak hat aminosavval reagált. A reakció a ciszteinnel, triptofánnal és tirozinnal túl gyors volt ahhoz, hogy a rendelkezésükre álló technikával követhessék. Három további aminosav (hisztidin, hidroxiprolin és prolin) sokkal lassabban, mérhető sebességgel reagált a ClO₂-dal.

A három gyorsan reagáló aminosav (cisztein [12], tirozin [17] és triptofán [27]) reakcióját Margerum laboratóriumában vizsgálták 2005 és 2008 között. Azt találták, hogy a cisztein reakciókészsége volt a legnagyobb ezen aminosavak közül. Kísérleti adataik alapján kiszámították a másodrendű sebességi állandókat (7,0-es pH-n, 25 °C-on, 1 M ionerősség mellett), és a következő értékeket kapták:

cisztein $6,9 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1} \gg$ tirozin $1,3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1} >$ triptofán $3,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1} \gg$ guanozin -5'-monofoszfát $4,5 \times 10^2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. (A guanozin-5'-monofoszfátot mint a nukleinsavakban található guanin modellvegyületét tanulmányozták [18].) Az itt bemutatott adatok a [18]-as hivatkozásban szereplő 3. táblázatból származnak.

2007-ben Ogata [22] megállapította, hogy a ClO₂ antimikrobiális aktivitása bizonyos fehérjék denaturálásán alapul, amely elsősorban a kísérleteiben használt modellfehérjék (szarvasmarhaszérumalbumin és glükóz-6-foszfát dehidrogenáz) triptofán- és tirozin- maradékának oxidatív módosításának következménye. 2012-ben megint csak Ogata volt az, aki megmutatta [23], hogy az influenzavírus ClO₂-dal történő inaktiválását egy, a hemagglutininben (a vírus egy tüskefehérjéjében) levő triptofán-maradék oxidációja okozta (W153), ezáltal megszüntetve annak receptorkötő képességét.

Ebben az összefüggésben érdekes megjegyezni, hogy az új koronavírus, a SARS-CoV-2 tüskefehérjéje 54 tirozin-, 12 triptofán- és 40 cisztein-maradékot tartalmaz [29]. Ha feltételezzük, hogy vizes oldatban az említett maradékok mindegyike ugyanúgy képes reagálni a klór-dioxiddal, mint a szabad aminosavak, akkor a vírusok inaktiválása rendkívül gyors lehet még nagyon híg (például 0,1 mg/l koncentrációjú) ClO₂-oldatban is.

A ClO₂ vízdoldható gáz

Bár a klór-dioxid önmagában gáz, de vízben jól oldódik. Amikor egyszerre van jelen víz és levegő, a ClO₂ megoszlik a két fázis között egy hőmérsékletfüggő egyensúlyi arányban. ClO₂ esetén ezt a megosztási együtthatót Ishi [11] határozta meg 1958-ban. A megosztási együttható, $\gamma = [\text{ClO}_2]_{\text{gáz}} / [\text{ClO}_2]_{\text{víz}}$ a $[\text{ClO}_2]_{\text{gáz}}$ gáz- és a $[\text{ClO}_2]_{\text{víz}}$ vizes fázisokban mért koncentrációk arányát adja meg ugyanazon koncentrációegységben kifejezve (például g/l), és ez a hőmérséklet

függvényében változik. Például 20 °C-on $\gamma = 0,0316$, ami azt jelenti, hogy egyensúlyban 1 cm³ vizes fázis $0,0316^{-1} = 31,6$ -szor több ClO₂ molekulát tartalmaz, mint 1 cm³ gázfázis.

A gyakorlatban a két fázis ClO₂-koncentrációját általában ppm-ben adják meg. Ezeket a dimenzió nélküli számokat a gáz- és folyadékfázisokban más-más módon határozzák meg, (V/V) ill. (m/m) ppm-ként (vagyis a térfogatok ill. a tömegek hányadosaként). Ezért gyakorlati célokra olyan megosztási együttható értékekre van szükségünk, amely ezen koncentrációkkal fejezi ki a megosztási arányt. Könnyen levezethető, hogy a ppm-ben kifejezett eloszlási együttható 357-szerese a (g/l)-ben kifejezett eloszlási koefficiensnek, tehát 20 °C-on $\gamma_{\text{ppm}} = 11,3$. Így a következő képlet használható ClO₂-oldattal egyensúlyban levő gázfázis ClO₂ koncentrációjának kiszámításához 20 °C-on:

$$[\text{ClO}_2]_{\text{gáz}} (\text{V/V}) \text{ ppm-ben} = 11,3 \times [\text{ClO}_2]_{\text{viz}} (\text{m/m}) \text{ ppm-ben}$$

A vírusok inaktiválása ClO₂-dal gázfázisban

A vírus-inaktiváló reakciók (a ClO₂ reakciója a három aminosavval) vizes közegben zajlanak, következésképpen a ClO₂ a vírusokat csak nedves állapotban képes inaktiválni. Ezért a nedvesített ClO₂ gáz ideális szer lehet a vírusok ellen, mind azok nedves, mind száraz állapotában. A vízcseppek által hordozott vírusokat képes lehet inaktiválni a gáz állapotú ClO₂, mivel a ClO₂ vízben jól oldódik [11]. A száraz ClO₂ gáz azonban nem lenne megfelelő, mivel a cseppek víztartalma elpárologhat, és vizes közeg hiányában a ClO₂ reakciói rendkívül lelassulnak. Valóban, Morino és munkatársai [16] arról számoltak be, hogy amikor gázfázisban alacsony koncentrációban ClO₂-t alkalmaztak száraz állapotú FCV vírus ellen, elengedhetetlen volt a légköri nedvesség – legalább 75–85%-os relatív páratartalom – jelenléte a vírusok inaktiválásához. A nedvesített ClO₂ gáz alkalmazásának előnye, hogy víztartalma képes a száraz környezetben levő vírusokat is megnedvesíteni. Beltérben a legtöbb vírus a szilárd felületeken található, viszont a vírusok egy kis része „levegőben utazó”, porrészecskékhez kapcsolódhat, amelyek egy mikrobát vagy mikrobák egy aggregátumát hordozzák. Ezért a hatékony fertőtlenítés előfeltétele, hogy a mikrobáknak a szoba minden részében nedvesnek kell lenniük és érintkezésbe kell kerülniük a ClO₂-dal. Ha elegendő vizes ClO₂ oldatot permetezünk a helyiségbe, a cseppek vízgőzzel telítik a légkört mindenhol, ráadásul a légkör mindenütt tartalmaz gáznemű ClO₂-ot. Ennek a módszernek nagy előnye, hogy a gázfázisban levő H₂O és ClO₂ molekulák elérhetik a mikrobákat a szoba minden apró sarkában. A finoman diszpergált vízcseppek, amelyek oldott ClO₂-ot tartalmaznak, kedvező környezetet hoznak létre ahhoz, hogy ezek az előnyös feltételek hosszú időn keresztül biztosítva legyenek.

Ez a magas ClO₂-koncentrációt alkalmazó módszer lehetővé teszi a helyiségek (pl. intenzív osztályok, karanténként használt épületek vagy tömegközlekedési járművek) gyors fertőtlenítését, ha nincs jelen ember. A ClO₂ gáz alkalmazhatósága azonban korlátozott, ha emberek vannak jelen, mivel bizonyos koncentráció fölött káros hatást fejt ki az emberekre és az állatokra. Az USA Munkahelybiztonsági és -Egészségügyi Igazgatósága (OSHA) korlátozást adott ki a munkahelyek levegőjében levő ClO₂ gáz megengedett koncentrációjára: 8 órás expozíciónál ez 0,1 ppm (V/V) idővel súlyozott átlag koncentráció (TWA). Egy átmeneti időre magasabb 0,3 ppm (V/V) koncentráció is megengedhető, de ez a rövid idejű expozíciós limit (STEL) csak maximum 15 percig állhat fenn [30].

Korábbi kutatások arról, hogyan akadályozható meg a vírusfertőzés gáznemű ClO₂-dal

Ogata [21] jött rá először, hogy a ClO₂ akár a 0,1 ppm (OSHA TWA) határérték alatt is képes inaktiválni a vírusokat, azaz olyan koncentrációkban, amelyek nem károsak az emberre. 2008-ban Ogata és Shibata [25] megmutatta, hogy az egerek megfertőzése influenza A vírussal aeroszolban megakadályozható, ha a levegőben ClO₂ gáz van jelen 0,03 ppm koncentrációban, ami csak 30%-a a munkahelyen emberek számára megengedett TWA expozíciós szintnek. Megállapították, hogy „a ClO₂ gáz ezért hasznos lehet az influenza elleni megelőző védekezésésként az emberi tevékenység helyén, anélkül, hogy evakuálásra szükség lenne”. Még arra is próbáltak kísérletet tenni, hogy csökkentsék az influenzával való megfertőződést iskolás gyermekek körében, azzal, hogy alacsony koncentrációjú ClO₂ gázt alkalmaztak az osztályteremben [24].

Ezen ígéretes korai eredmények ellenére nem tudunk arról, hogy az elmúlt évtizedben ezt a módszert széles körben alkalmazták volna. Két probléma akadályozhatta a módszer széles körű elterjedését:

- 1.) A fent idézett szerzők által alkalmazott módszerrel nem könnyű feladat létrehozni és fenntartani a vírus kielégítő inaktiválásához szükséges nagyon alacsony ClO₂ koncentrációt egy nagy térben és hosszú időn keresztül.
- 2.) Nem volt világos, hogy miért nem ártalmas az emberekre vagy az állatokra az alacsony ClO₂-szint, miközben a vírusok ellen mégis hatékony.

A ClO₂ méretszelektív hatása

Bár a cisztein, tirozin és triptofán csoportok az emberi szövetekben is megtalálhatók, a ClO₂ sokkal kevésbé mérgező az emberekre vagy az állatokra, mint a mikrobákra (baktériumokra, gombákra és vírusokra). Noszticzius és munkatársai [20] megállapították, hogy az emberek és a mikrobák közötti szelektivitás elsősorban nem a mikrobák eltérő biokémiai tulajdonságaival, hanem azok eltérő méreteivel magyarázható. Kísérletek és egy reakció-diffúziós modellel végzett számítások alapján Noszticzius és munkatársai [20] azt találták, hogy egy élő organizmus elpusztításának ideje a karakterisztikus méretének (pl. átmérőjének) négyzetével arányos, így a kisméretűek rendkívül gyorsan elpusztulnak. Számításaik azt mutatták, hogy egy 1 μm átmérőjű baktérium 300 mg/l koncentrációjú ClO₂-oldatban 3 ms-on belül elpusztul, és még egy ennél sokkal hígabb, 0,25 mg/l koncentrációjú ClO₂-oldatban is elpusztul 3,6 s alatt. Ez alatt az idő alatt a ClO₂ eléri a sejt teljes térfogatát, és mindenütt denaturálja a ciszteint, tirozint és triptofánt tartalmazó fehérjéket, amelyek nélkülözhetetlenek az életfolyamatokhoz.

A glutation védő szerepe a ClO₂ oxidációja ellen az élő sejtekben

Ison és munkatársai szerint [12] a glutation olyan nagy sebességgel reagál a ClO₂-dal, amely még a nagyon gyors ClO₂ – cisztein reakció sebességét is felülmúlja. Amikor a ClO₂ kapcsolatba kerül egy élő sejttel, amely glutationt tartalmaz, kezdetben a ClO₂-koncentráció a belépés helyén nagyon alacsony marad a glutationnal való gyors reakció miatt. Mivel a glutation kis molekula, nagyon gyorsan tud diffundálni a sejt más részeiből a belépési ponthoz, így elfogyasztja a belépő ClO₂ nagy részét, megakadályozva abban, hogy elérje a citoplazmában a fehérjékben levő cisztein, tirozin és triptofán savmaradékokat. Következésképpen egy kezdeti alacsony ClO₂-koncentráció nem okozhat túl sok kárt. A folyamatos ClO₂-utánpótlás azonban végül kimeríti a sejt glutation- (és más antioxidáns-) kapacitását még akkor is, ha a sejt folyamatosan termel ilyen antioxidánsokat. Ekkor már a ClO₂ képes arra, hogy belépjen a sejt korábban védett zónáiba, és

reagáljon a reaktív aminosav maradékokkal, amivel az érintett fehérjék denaturálódását és végül a sejt pusztulását okozza.

Az élő sejtekben jelen lévő glutation és egyéb kisméretű antioxidáns molekulák hatását Noszticzius és munkatársai [20] az elméleti számításaikban nem vették figyelembe. Kísérleteiket egy nem élő, átmosott állati membránon végezték, ahol a membránhoz kötött reaktív fehérjék ugyan jelen voltak, de glutation és más kis molekulák nem. Egy élő sejt azonban folyamatosan termeli ezeket az antioxidánsokat, így élő sejt esetében a szerepüket nem lehet elhanyagolni. Valóban, *Escherichia coli* baktériumok 0,25 mg/l koncentrációjú ClO₂-oldattal való fertőtlenítésénél [2] a kísérletileg mért fertőtlenítési sebesség meglepően nagy, de mégis egy nagyságrenddel kisebb, mint az elméleti becslés. Észszerű feltételezni, hogy az eltérés oka a kisméretű redukáló molekulák késleltető hatása.

Az emberi szövetek védelme a ClO₂ oxidáló hatásával szemben

Az emberi sejtek is tartalmaznak glutationt mM nagyságrendű koncentrációban, és egyéb antioxidánsokat is, mint például C- és E-vitamint, amelyek a glutation mellett részt vesznek a ClO₂ redukálásában [7]. Mivel az emberi sejt sokkal nagyobb, mint egy baktérium, ezért glutation-tartaléka és glutation-termelési képessége is nagyobb, tehát még egy izolált emberi sejt is sokkal hosszabb ideig képes életben maradni ClO₂ jelenlétében, mint egy planktonikus baktérium. Tekintettel arra, hogy az emberi sejtek nem izoláltak, hanem szöveteket formálnak, a glutation-készletük sok nagyságrenddel nagyobb lehet, mint a planktonikus baktériumoké. Ezen felül a többsejtű szervezetekben a keringés folyamatosan szállít antioxidánsokat a ClO₂-támadás által érintett szövetek sejtjeihez, segítve azokat a túlélésben. Ez erősíti a méret-szelektivitási hatást, és megmagyarázza azt a meglepő megfigyelést [15], hogy egy olyan ClO₂-oldat, amely a másodperc töredéke alatt képes elpusztítani a planktonikus baktériumokat, emberek számára mégis fogyasztható, mert kis mennyiségben biztonságosan megiható (pl. napi 1 liter 24 mg/l-es ClO₂-oldat elfogyasztása két részletben nem okozott észlelhető hatást az emberre [15]).

A ClO₂ hatása a tüdőre

Noha az emberi szövetek általában nem nagyon érzékenyek a ClO₂-ra, a tüdőt másképpen kell tekinteni. Ennek oka az, hogy az interalveolaris septum, amely elválasztja az alveolusok légterét a kapilláris lumen véráramától, nagyon vékony. Ez a diffúziós gát az emberi tüdőben mindössze 2 µm vastag [1], mert így tudja elősegíteni az oxigén és a széndioxid hatékony diffúziós cseréjét a levegő és a vér között. Az alveolust egy vékony folyadékréteg vonja be, az ún. epithelialis, a tüdőt bélelő nyákréteg (Epithelial Lining Fluid: ELF) vagy hipofázis (hypophase). Az ELF csak 0,2 µm vastag a patkány alveolusokban [1, 13]. Glutationt [3] és más antioxidánsokat, például aszkorbinsavat és húgysavat tartalmaz [5]. Figyelemre méltó, hogy az aszkorbinsav koncentrációja 2,5-szer, a glutation-koncentrációja pedig több, mint százszor nagyobb az ELF-ben, mint a plazmában. Ezen nem-enzimatis antioxidánsok normál feladata az ELF-ben az epithelialis sejtek védelme az anyagcsere mérgező termékeiként keletkező reaktív oxigéntartalmú vegyületektől (ROS), mint pl. a szuperoxid gyököktől vagy a hidrogén-peroxidtól. Ugyanakkor meg tudják védeni a tüdőt más mérgező gázoktól, például ózontól (O₃), nitrogén-dioxidtól (NO₂) vagy ClO₂-tól is. Nagy mennyiségű ClO₂ viszont képes elfogyasztani az összes redukálószer az ELF-ben, és ezután elkezd reagálni az epithelialis sejtekkel, egyre jobban károsítva azokat. Mindazonáltal észszerű feltételezés, hogy a ClO₂ hatása a tüdőre nem csak a gázfázisban levő koncentrációjától, hanem a behatási időtől is függ. Így a ClO₂ tüdőre kifejtett hatásának vizsgálatakor logikus lenne a baktériumok esetéhez hasonlóan a CT-t (koncentráció × kontakt idő) figyelembe venni.

A vírusok inaktiválási idejének becslése

Vírusok esetén az inaktiválási mechanizmus eltér a baktériumok vagy más sejtek mechanizmusától. Feltételezhető, hogy egy vírus inaktiválási ideje azonos feltételek (ClO₂-

koncentráció, hőmérséklet, stb.) mellett sokkal rövidebb, mint egy baktériumé. A következő érvek támasztják alá ezt a feltételezést:

1.) A vírusok kb. egy nagyságrenddel kisebbek, mint a baktériumok. Például a SARS-CoV-2 vírus átmérője körülbelül 120 nm [9]. A [20]-as irodalomban bevezetett inaktiválási idő vírusok esetében 1–2 nagyságrenddel kisebb, mint baktériumok esetében, azaz a diffúzió-kontrollált reakció a ClO₂-dal rövidebb időtartamon belül megy végbe a vírus teljes térfogatában.

2.) A vírus inaktiválásához nem szükséges, hogy a ClO₂ behatoljon a vírusba. Elegendő, ha a ClO₂ reagál a vírus felületén levő tüske cisztein-, tirozin- és triptofán aminosav maradékával, vagy azok egy részével. Ez azt jelenti, hogy a [20]-as számú hivatkozás elméleti megközelítése túlbecsüli a vírusok inaktiválási idejét. Egyrészt, mivel 0,1 µm-es méret alatt a diffúzió rendkívül gyors, tehát valószínűleg nem korlátozza a reakciók sebességét. Másrészt, mivel a ClO₂ a tüske reaktív aminosav-maradványainak nagy részét elérheti anélkül, hogy át kéne hatolnia a vírus fehérjeburkán.

3.) A vírusok nem tartalmaznak védő kis molekulású tiolokat, pl. glutationt, vagy más kis molekulájú védő anyagcseretermékeket, mivel nincs metabolizmusuk. A vírusoknak ezért sokkal érzékenyebbeknek kell lenniük a ClO₂ támadására, mint a baktériumoknak.

Ezek a tények azt sugallják, hogy amint a ClO₂ érintkezésbe kerül egy vírus felületével, annak inaktiválása gyorsan megtörténik. Viszont a sejtek megfertőzésére kész vírus tipikusan vizes fázisban van, pl. folyadékcseppben vagy a nyálkahártyákat borító nyákrétegben. Ezen vizes fázisok mérete sokkal nagyobb, mint magáé a vírusé. Ezért ilyen esetekben valószínűleg a sebességmeghatározó folyamat egyrészt a ClO₂ diffúziója a vízben, másrészt a reakciója más anyagokkal. A vírus inaktiválásához szükséges idő önmagában viszonylag rövid ahhoz képest, ami szükséges, hogy elegendő ClO₂ molekula jusson el a vírushoz.

JAVASLATOK A VÍRUSTERJEDÉS MEGELŐZÉSÉRE ClO₂ FELHASZNÁLÁSÁVAL

Az előző pontok alapján most bemutatunk néhány javaslatot, hogy vizes klórdioxid-oldatokat hogyan lehet alkalmazni globális és lokális (egyéni) fertőtlenítésre. Ezen javaslatok nagy része hipotéziseken alapul, így csak alapos kutatás után lesznek alkalmazhatók. A jelen munka célja olyan kutatások kezdeményezése ezeknek a hipotéziseknek és javaslatoknak a kísérleti ellenőrzésére, amelyek nagytisztaságú ClO₂-oldatok vírus- vagy egyéb fertőzések elleni új alkalmazásaihoz vezethetnek. Ezeket az ötleteket lehetett volna tovább érlelni, de a globális járvány fenyegetése miatt úgy döntöttünk, hogy már most bemutatjuk őket.

Globális megelőzés

Levegő, szilárd felületek és emberek egyidejű fertőtlenítése vizes klórdioxid oldattal. Amit itt javasolunk, alapvetően ugyanaz az ötlet, mint amit már javasoltak Ogata és munkatársai [21, 24, 25]: olyan ClO₂ atmoszférát létrehozni, amely emberre biztonságos, ugyanakkor a mikrobákra káros. Azonban vannak eltérések az ő javaslataik és a miénk között. Ogata csoportja a légtér ClO₂-koncentrációját (C) tekintette a kezelés egyetlen fontos paraméterének. Azt javasolták, hogy az 0,1 (V/V) ppm-es OSHA limit alatti ClO₂-koncentrációt kell alkalmazni annyi ideig, amennyi a mikroorganizmusok inaktiválásához szükséges. Ilyen módszerrel azonban a szükséges behatási idő (T) nagyon hosszú lehet. Itt mi azt javasoljuk, hogy tekintsük a CT-szorzatot a fertőtlenítő hatás paraméterének. Ilyen módon alkalmazható az OSHA limitet meghaladó ClO₂ koncentráció, de csak korlátozott ideig. Ennek a módszernek az az előnye, hogy mivel magasabb koncentrációt alkalmaz, a szükséges behatási idő sokkal rövidebb lehet. Az elképzelést lejjebb egy numerikus példával szemléltetjük.

Egy másik fontos különbség, hogy Ogata módszere elsősorban a ClO₂ gáz szerepére koncentrál, míg mi a ClO₂ és H₂O gázok egyidejű felhasználásának fontosságát hangsúlyozzuk, amint ezt

Morino és munkatársainak megfigyelései [16] megerősítik. E célból új módszert javasolunk a ClO₂-atmoszféra létrehozására: vizes ClO₂ oldat levegőbe permetezésével hozzuk létre a légtér egyensúlyi ClO₂ és H₂O koncentrációját. A vizes oldatokat egyébként is könnyebb kezelni, mint egy folyamatos gázáramban fenntartani egy stabil és nagyon alacsony ClO₂ szintet.

Tanácsos a permetezéshez nagy tisztaságú ClO₂ oldatot alkalmazni, mert így elkerülhető a kezelt személyekre illetve felületre kifejtett minden nemkívánatos mellékhatás. A nagy tisztaságú ClO₂-oldat maradék, illetve nyom nélkül párolog el.

Szemléltető numerikus példa. Tegyük fel, hogy egy zárt teret akarunk fertőtleníteni vizes ClO₂ törzsoldat bepermetezésével. A ClO₂ egyensúlyi koncentrációi a gázban ($c_{gáz}$), ill. a folyadék fázisban ($c_{víz,es}$) kiszámíthatók egyrészt az Ishi által mért [11] gőz-folyadék egyensúlyi megoszlási hányadosból:

$$\gamma = \frac{c_{gáz}}{c_{víz,es}},$$

másrészt a ClO₂ komponens-mérlegéből:

$$V_{víz} \cdot c_{víz,0} = V_{víz} \cdot c_{víz,es} + V_{gáz} \cdot c_{gáz},$$

ahol $V_{gáz}$ a fertőtlenítenendő térfogat, $V_{víz}$ a ClO₂ törzsoldat térfogata, és $c_{víz,0}$ annak ClO₂-koncentrációja.

A fenti két egyenlet alapján $c_{víz,es}$ -re a következő formula adódik:

$$c_{víz,es} = \frac{c_{víz,0}}{1 + \gamma \frac{V_{gáz}}{V_{víz}}}.$$

Tegyük fel, hogy $V_{víz} = 20$ ml térfogatú, $c_{víz,0} = 40$ (m/m) ppm koncentrációjú vizes klór-dioxid törzsoldatot alkalmazunk $V_{gáz} = 1$ m³ zárt térben. 20 °C-on a megoszlási együttható értéke $\gamma = 0,0316$ (Ishi adatai [11]), ha mindkét koncentráció ugyanazon mértékegységben van megadva (például mg/l-ben); illetve $\gamma_{ppm} = 11,3$, ha (m/m) ppm és (V/V) ppm mennyiségeket használunk a víz- és gázfázisokban (ld. **A ClO₂ vízoldható gáz** c. szakaszt). Az adatokat behelyettesítve az eredmények

$$c_{víz,es} = 0,025 \text{ (m/m) ppm,}$$

$$c_{gáz} = \gamma_{ppm} \cdot c_{víz,es} = 0,29 \text{ (V/V) ppm.}$$

Ez az eredmény éppen az OSHA STEL (rövid távú expozíciós határérték) érték alatt marad, amely 0,30 (V/V) ppm 15 percre vonatkoztatva. Az OSHA szerint a STEL rövid távú expozíciós határérték elfogadható átlagérték egy rövidebb – általában 15 perces – expozíciónál, mindaddig, amíg a terhelés az idővel súlyozott átlagértéket (TWA) nem haladja meg. Ha egy személyt 15 percen keresztül 0,30 ppm-nek tesznek ki, és közvetlenül utána ClO₂-mentes légkörben van 30 percig, akkor az egész 45 perces időszak TWA- értéke éppen az elfogadható 0,10 ppm. Ez azt jelenti, hogy ha egy ember 0,30 ppm ClO₂ atmoszférának van kitéve 15 percig egyszeri alkalommal, vagy ezt a kezelést periodikusan kapja 30 perces szünetekkel egy 8 órás perióduson belül, akkor ez nem okozhat egészségügyi problémákat.

Kérdések és megjegyzések

1.) Fontos kérdés, hogy vajon egy 0,29 (V/V) ppm koncentrációjú ClO₂ atmoszférában való 15 perces tartózkodás elegendő-e a jelen lévő vírusok inaktiválásához, vagy sem? A nedves atmoszférára tekintettel feltételezhetjük, hogy a vírusok is nedvesek, vagy egyenesen 0,025 (m/m) ppm ClO₂ koncentrációjú kis vízcseppekben helyezkednek el. Nincs közvetlen adat a vírusok inaktiválási idejéről ilyen oldatban, de becslésünk szerint [2] 0,25 (V/V) ppm-es ClO₂-oldatban az E. coli baktérium elpusztításához szükséges idő 15 ± 5 másodperc. Észszerű feltételezés, hogy tízszeres hígabb oldatban az idő tízszer hosszabb lesz, azaz $150 \text{ s} = 2,5$ perc. Mivel a vírusok valószínűleg gyorsabban inaktiválhatók, mint a baktériumok, és a 15 perc hatszor

hosszabb az E. coli esetében szükséges 2,5 percnél, így ez a módszer sikeres lehet, legalábbis elméletben.

2.) Egy ilyen módszer tesztelésére nagyobb térfogatú speciális fertőtlenítő helyiségek kialakítását javasoljuk. Ilyen kísérletek indítása nagyon kívánatos lenne, mivel ez a módszer hatékony, nem specifikus védelem lehetne az összes vírus ellen, és segíthet a vírusjárvány kitörések visszafogásában.

Lokális megelőzés. Egyéni fertőtlenítési technikák vírushatások ellen

A száj és a felső légutak fertőtlenítése gargalizálással. A jelenlegi fertőző koronavírusról ismert, hogy a szájban, valamint a felső és az alsó légutakban is jelen van, de súlyos fertőzéseket csak az alsó légutakban, különösen a tüdőben okoz. A betegség inkubációs periódusa több nap, de a vírust gyakran kimutatják a felső légutakból vett mintákban már néhány nappal a tünetek megjelenése előtt. Amint azt egy korábbi fejezetben tárgyaltuk, a klór-dioxid minden bizonnyal inaktíválja a vírust. Gargalizálással a felső légúti traktus elérhető az orrüreg kivételével, ahhoz viszont hozzá lehet férni pl. orrcseppek vagy impregnált tamponok segítségével. Ezeket a területeket lehetséges fertőtleníteni a kereskedelemben kapható klór-dioxid oldatokkal [31] végzett rendszeres öblítéssel, így a vírusok számát jelentősen lehet csökkenteni a szájban és a felső légutakban. Nem lehetünk biztosak abban, hogy egy ilyen kezelés elegendő lenne a betegség kialakulásának megakadályozására, mivel a vírusok a test más részeiben esetleg képesek túlélni. Azonban a vírusok egy részének inaktíválása egy ilyen kezeléssel egészen biztosan segít az immunrendszernek a betegség elleni küzdelemben. E tekintetben érdekes megjegyezni, hogy Japán kutatók [26] bizonyították, hogy ivóvízzel történő rendszeres gargalizálás statisztikailag szignifikánsan csökkentette a felső légúti traktusban levő fertőzések előfordulását. Ezt azzal magyarázták, hogy a kísérletben használt ivóvíz 0,5 mg/l koncentrációban tartalmazott klórt, amit a víz fertőtlenítésére alkalmaztak. Itt kívánjuk megjegyezni, hogy bizonyos helyeken az ivóvíz fertőtlenítésére klór-dioxidot alkalmaznak klór helyett.

Az alsó légutak fertőtlenítése

Az első probléma az, hogy a ClO₂ hogyan vezethető be biztonságosan az alsó légutakba. E célból bármilyen inhalációs technikát alkalmazhatunk ClO₂-ot tartalmazó vízcseppek aeroszoljaival [14].

A második és még fontosabb probléma az, hogy mekkora mennyiségű ClO₂-ot lehet belélegezni a tüdő károsodása nélkül? Hasznos lenne megismerni a tüdő számára még nem káros ClO₂ dózist. Tudomásunk szerint ilyen közvetlen adatok az irodalomban nem állnak rendelkezésre, de más adatokból kiszámolhatók. Egy ilyen számítás kiindulópontja az OSHA STEL érték [30], amely kimondja, hogy 0,30 ppm ClO₂ koncentrációjú munkahelyi atmoszférában való 15 perces tartózkodás károsodás nélkül tolerálható. A dolgozó által 15 perc alatt belélegzett levegő 15-szöröse az ún. „percventilláció” értéknek [32]. A [32] hivatkozás 3. táblázata szerint könnyű tevékenységek során, pl. autóban ülve a perctérfogat körülbelül 12 liter, tehát 15 perc alatt a teljes belélegzett levegő körülbelül 180 liter. 0,30 ppm koncentráció esetén az összes belélegzett ClO₂ mennyisége 54 µl, ami (20 °C-on) 2,25 µmol ≈ 0,15 mg ClO₂. Intenzívebb fizikai aktivitást feltételezve ez kétszer nagyobb is lehet, 0,30 mg.

Ez a durva számítás azt mutatja, hogy megközelítőleg ez az a ClO₂ mennyiség, amelyet a tüdő elvisel. Az OSHA korlátozása valószínűleg magas biztonsági tényezőket alkalmazott, így a valós határértéknek magasabbnak kell lennie.

Javasoljuk a ClO₂ tüdőre toxikus dózisének meghatározását állatkísérletekkel. Fontos lenne további állatkísérletek során ellenőrizni, hogy a nem toxikus mennyiségben alkalmazott ClO₂ képes-e kezelni a tüdő baktériumok vagy vírusok által okozott fertőzéseit.

ÖSSZEFOGLALÁS

Ebben a szerkesztőségi cikkben áttekintettük a klór-dioxid különleges tulajdonságait, amely alapján ideális és nem specifikus antimikrobiális szerként használható az emberek számára ártalmatlan koncentrációkban, valamint a korábbi kutatásokat a vírusfertőzések megelőzéséről gáznemű ClO₂-dal. Ezen háttér alapján néhány új hipotetikus módszert javasoltunk klór-dioxid felhasználásával helyiségek fertőtlenítésére, humán fertőzések megelőzésére és a vírusterjedés lelassítására. Ezek nonspecifikus módszerek, melyeket bármely újonnan felfedezett vírus elleni védelem első lépéseként lehet használni hatékony, konkrét ellenintézkedések kifejlesztéséig.

HIVATKOZÁSOK

- (1) Bastacky J, Lee CY, Goerke J, Koushafar H, Yager D, Kenaga L, Speed TP, Chen Y, Clements JA: Alveolar lining layer is thin and continuous: low-temperature scanning electron microscopy of rat lung. *J. Appl. Physiol.* 79(5), 1615–1628 (1995)
- (2) Benarde MA, Snow WB, Oliveri VP, Davidson B: Kinetics and mechanism of bacterial disinfection by chlorine dioxide. *Appl. Microbiol.* 15(2), 257-65 (1967)
- (3) Cantin AM, North SL, Hubbard RC, Crystal RG: Normal alveolar epithelial lining fluid contains high levels of glutathione. *J. Appl. Physiol.* 63(1), 152–157 (1987)
- (4) Cao Z, Zhang Q, Lu X, Pfeiffer D, Jia Z, Song H, Zeng DD: Estimating the effective reproduction number of the 2019-nCoV in China. Elérhető online: <http://medrxiv.org> Jan. 29 (2020) DOI: 10.1101/2020.01.27.20018952
- (5) Cross CE, van der Vliet A, A. O'Neill CA, Louie S, Halliwell B: Oxidants, antioxidants, and respiratory tract lining fluids. *Environ. Health Perspect.* 102 (SUPPL. 10), 185–191 (1994)
- (6) EPA Guidance Manual for Compliance with the Filtration and Disinfection Requirements for Public Water Sources (AWWA, 1991). Table C-9: CT values for inactivation of viruses by chlorine dioxide. Elérhető online: <http://www.opssys.com/InstantKB/article.aspx?id=14495>
- (7) Forman HJ, Zhang H, Rinna A: Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Mol. Aspects Med.* 30(1-2), 1–12 (2009)
- (8) Hauchman FS, Noss CI, Olivieri VP: Chlorine dioxide reactivity with nucleic acids. *Water Res.* 20(3), 357–361 (1986)
- (9) <https://www.britannica.com/science/coronavirus-virus-group>
- (10) Hui DS, Azhar EI, Madani TA, Ntoumi F, Kock R, Dar O, Ippolito G, Mchugh TD, Memish ZA, Drosten C, Zumla A, Petersen E: The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health – The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *Int. J. Infect. Dis.* 91, 264–266 (2020)
- (11) Ishi G: Solubility of chlorine dioxide. *Chem. Eng. Japan* 22(3), 153–154 (1958)
- (12) Ison A, Odeh IN, Margerum DW: Kinetics and mechanisms of chlorine dioxide and chlorite oxidations of cysteine and glutathione. *Inorg. Chem.* 45, 8768–8775 (2006)
- (13) Knudsen L, Ochs M: The micromechanics of lung alveoli: structure and function of surfactant and tissue components. *Review Histochem. Cell Biol.* 150, 661–676 (2018)
- (14) Koren E: A suggestion. Personal information (2020)
- (15) Lubbers JR, Chauhan SR, Bianchine JR: Controlled clinical evaluations of chlorine dioxide, chlorite and chlorate in man. *Environ. Health Perspect.* 46, 57–62 (1982)
- (16) Morino H, Fukuda T, Miura T, Lee C, Shibata T, Sanekata T: Inactivation of feline calicivirus, a Norovirus surrogate, by chlorine dioxide gas. *Biocontrol Sci.* 14, 147–153 (2009)

- (17) Napolitano M J, Green BJ, Nicoson JS, Margerum DW: Chlorine dioxide oxidations of tyrosine, N-acetyltyrosine, and Dopa. *Chem. Res. Toxicol.* 18, 501–508 (2005)
- (18) Napolitano MJ, Stewart DJ, Margerum DW: Chlorine dioxide oxidation of guanosine 5'-monophosphate. *Chem. Res. Toxicol.* 19, 1451–1458 (2006)
- (19) Noss CI, Hauchman FS, Olivieri VP: Chlorine dioxide reactivity with proteins. *Water Res.* 20(3), 351–356 (1986)
- (20) Noszticzius Z, Wittmann M, Kály-Kullai K, Beregvári Z, Kiss I, Rosivall L, Szegei J: Chlorine dioxide is a size-selective antimicrobial agent. *PLOS ONE* 8(11), paper e79157 (2013).
Elérhető online:
<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0079157>
- (21) Ogata N: Chlorine dioxide gas for use in treating respiratory virus infection. European Patent Specification EP 1955719 B1. Priority to JP 2005342503 (2005)
- (22) Ogata N: Denaturation of Protein by Chlorine dioxide: oxidative modification of tryptophane and tyrosine residues. *Biochemistry* 46, 4898–4911 (2007)
- (23) Ogata N: Inactivation of influenza virus haemagglutinin by chlorine dioxide: oxidation of the conserved tryptophan 153 residue in the receptor-binding site. *J. Gen. Virol.* 93, 2558–2563 (2012)
- (24) Ogata N, Shibata T: Effect of chlorine dioxide gas of extremely low concentration on absenteeism of schoolchildren. *Int. J. Med. Med. Sci.* 1(7), 288–289 (2009)
- (25) Ogata N, Shibata T: Protective effect of low-concentration chlorine dioxide gas against influenza A virus infection. *J. Gen. Virol.* 89, 60–67 (2008)
- (26) Satomura K, Kitamura T, Kawamura T, Shimbo T, Watanabe M, Kamei M, Takano Y, Tamakoshi A, Great Cold Investigators: Prevention of Upper Respiratory Tract Infections by Gargling. A Randomized Trial. *Am. J. Prev. Med.* 29, 302–307 (2005)
- (27) Stewart DJ, Napolitano MJ, Bakhmutova-Albert EV, Margerum DW: Kinetics and mechanisms of chlorine dioxide oxidation of tryptophan. *Inorg. Chem.* 47, 1639–1647 (2008)
- (28) Tan H, Wheeler BW, Wei C: Reaction of chlorine dioxide with amino acids and peptides: Kinetics and mutagenicity studies. *Mutat. Res.* 188(4), 259–266 (1987)
- (29) Tao Y, Queen K, Paden CR, Zhang J, Li Y, Uehara A, Lu X, Lynch B, Sakthivel SKK, Whitaker BL, Kamili S, Wang L, Murray JR, Gerber SI, Lindstrom S, Tong S: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 isolate 2019-nCoV/USA-IL1/2020, complete genome. NCBI GenBank (2020). Elérhető online:
[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MN988713.1?report=genbank&log\\$=nuclalign&blast_rank=1&RID=304U21XH016](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MN988713.1?report=genbank&log$=nuclalign&blast_rank=1&RID=304U21XH016)
- (30) US Occupational Safety and Health Administration (1991): Determination of Chlorine Dioxide in Workplace Atmospheres. Elérhető online:
<https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/inorganic/id202/id202.html#ref88>
- (31) www.solumium.com
- (32) Zuurbier M, Hoek G, van den Hazel P, Brunekreef B: Minute ventilation of cyclists, car and bus passengers: an experimental study. *Environ. Health* 8, 48 (2009)

SZEMÉLYES ÉRINTETTSÉG

Noszticzius Zoltán, Wittmann Mária és Kály-Kullai Kristóf a 2069232 sz. „Módszer és berendezés a nagy tisztaságú klór-dioxidot tartalmazó folyadékok előállítására” európai szabadalom feltalálói. Noszticzius Zoltán a Solumium Kft. (klór-dioxidot gyártó cég) alapítója és tulajdonosa, Kály-Kullai Kristóf pedig fizetett alkalmazottja.