



● PARKS パークス株式会社

エバ水のアフリカ豚コレラウイルス (ASFV) に対する効果

宮崎市学園木花台西 1-1

宮崎大学 山口良二

1. ASFV における Evatec water (エバ水) の抗ウイルス効果

○実行期間

・2019年12月25日～12月30日

(実験はベトナム国立大学において山口の指示で5日間にわたって実施)

○実験内容

- ・エバ水の包装の安全性の確認。
- ・エバ水を十分に振ってから一つの試験管につき14mlずつに分注。
- ・エバ水を滅菌蒸留水で希釈。
- ・肺胞マクロファージ (PAM) 細胞の培養。
- ・PAM細胞およびブタの赤血球の複製に影響を与えない適切な濃度にエバ水を希釈。
- ・アフリカ豚コレラ ASFV の準備: 10^5 HAD₅₀ の力価の ASF1 ウイルス株。
- ・ASF1 とエバ水を 1:1 の比率にし、室温 (20~25°C) で 30 分と 1 時間反応させる。
- ・反応させたものを PAM 細胞に加え、赤血球の吸着作用について調べる (ASFV が PAM 細胞に侵入し増殖すると、PAM 細胞の細胞表面にブタの赤血球が吸着し、ロゼットを形成する)。

○結果

表1. 2つの濃度および別条件下での ASFV の抗ウイルス効果

No.	抗ウイルス効果に用いたエバ水希釈の濃度 (PPM)	温度条件	
		室温 (20°C-25°C)	
		30分	60分
1	600	—	—
2	300	—	—
	陽性対照	++++	++++
	陰性対照	—	—

備考

“—”：5日間の培養の後、ロゼット形成がみられなかった

“+”：5日間の培養の後、ロゼット形成がみられた

“+” < “++” < “+++” < “++++”：ロゼット形成の増加に伴い、+の数は増加する

考察

エバ水の 600, 300PPM はアフリカ豚コレラに有効であることがわかった。

2. ASFV における Evatec water (エバ水)の抗ウイルス効果

○実行期間

・2020年1月14日～1月19日

(実験はベトナム国立大学において山口の指示で5日間にわたって実施)

○実験内容

- ・エバ水を十分に振ってから一つの試験管につき14mlずつに分注。
- ・エバ水を滅菌蒸留水で希釈。
- ・肺胞マクロファージ (PAM) 細胞の培養。
- ・PAM細胞およびブタの赤血球の複製に影響を与えない適切な濃度にエバ水を希釈。
- ・アフリカ豚コレラ ASFV の準備： 10^5 HAD₅₀の力価の ASF1 ウイルス株。
- ・ASF1 とエバ水を1：1の比率にし、室温 (20～25℃) で30分と1時間反応させる。
- ・反応させたものを PAM 細胞に加え、赤血球の吸着作用について調べる (ASFV が PAM 細胞に侵入し増殖すると、PAM 細胞の細胞表面にブタの赤血球が吸着し、ロゼットを形成する)。

○結果

表2. 2つの濃度および別条件下での ASFV の抗ウイルス効果

No.	抗ウイルス効果に用いたエバ水希釈の濃度 (PPM)	温度条件	
		室温 (20℃-25℃)	
		30分	60分
1	100	++	++
2	50	+++	+++
3	25	+++	+++
4	12.5	+++	+++
5	5	+++	+++
	陽性対照	++++	++++
	陰性対照	-	-

備考

“-”：5日間の培養の後、ロゼット形成がみられなかった

“+”：5日間の培養の後、ロゼット形成がみられた

“+”<“++”<“+++”<“++++”：ロゼット形成の増加に伴い、+の数は増加する

考察

エバ水の5-100PPMはアフリカ豚コレラウイルスに有効であることがわかった。しかし、5-50PPMでは効果は弱かった。原因は被検ウイルス力価がにあると考えられた。

3. ASFV における Evatec water (エバ水)の抗ウイルス効果

○実行期間

・2020年2月15日～3月2日

(実験はベトナム国立大学において山口の指示で5日間にわたって実施)

○実験内容

- ・エバ水を十分に振ってから一つの試験管につき14mlずつに分注。
- ・エバ水を滅菌蒸留水で希釈。
- ・肺胞マクロファージ (PAM) 細胞の培養。
- ・PAM細胞およびブタの赤血球の複製に影響を与えない適切な濃度にエバ水を希釈。
- ・アフリカ豚コレラ ASFV の準備： 10^5 HAD₅₀の力価の ASF1 ウイルス株。
- ・ 10^5 HAD₅₀/ml、 10^4 HAD₅₀/ml、 10^3 HAD₅₀/ml、 10^2 HAD₅₀/ml、 10^1 HAD₅₀/ml
- ・ASF1 とエバ水を1：1の比率にし、室温(20～25℃)で30分と1時間反応させる。
- ・反応させたものをPAM細胞に加え、赤血球の吸着作用について調べる (ASFVがPAM細胞に侵入し増殖すると、PAM細胞の細胞表面にブタの赤血球が吸着し、ロゼットを形成する)。

○結果

表3. エバ水の濃度と希釈ウイルス力価を反応させた場合の抗ウイルス効果

No.	エバ水の希釈濃度 (PPM)	10^5 HAD ₅₀ /ml		10^4 HAD ₅₀ /ml	10^3 HAD ₅₀ /ml	10^2 HAD ₅₀ /ml	10^1 HAD ₅₀ /ml
		室温 (20～25℃)					
		30分	60分	30分	30分	30分	30分
1	100	++	+++	+	+	-	-
2	50	+++	+++	+	+	-	-
3	25	+++	+++	+++	++	+	+
4	12.5	+++	+++	+++	++	+	+
	陽性対照	++++	++++	+++	++	++	+
	陰性対照	-	-	-	-	-	-

“：5日間の培養の後、ロゼット形成がみられなかった

“+”：5日間の培養の後、ロゼット形成がみられた + +++ +++ は効果あり。

“+”<“++”<“+++”<“++++”：ロゼット形成の増加に伴い、+の数は増加する

考察

エバ水の5-100PPMはアフリカ豚コレラウイルス力価に応じて有効であることがわかった。

しかし、5-50PPMでは効果は弱かった。原因は被検ウイルス力価にあると考えられた。

ウイルス量が少ない 10^2 HAD₅₀/ml以下では50PPMでも完全に効果があった。

総合考察

エバ水はアフリカ豚コレラウイルスに完全な効果がみられた。高濃度 300PPM 以上では 10^5 (10,000)HAD₅₀/ml を完全に殺処分する効果がみられた。ウイルス量が少ない 10^2 HAD₅₀/ml 以下では 50PPM でも完全に効果があった。通常使用するのに 100PPM あれば効果はかなりあると思われた。使用環境にもよるが 300PPM ではかなり高濃度のウイルスでも完全効果があると考えられた。ウイルス量に対して、効果は濃度依存性であるので高濃度使用することに問題がなければ高濃度が良いと思われた。