

コロナウイルスに対するエヴァウォーターの効果

2020年4月20日

宮崎大学農学部獣医学科教授

山口良二



被検試薬：エヴァウォーター

ウイルス：コロナウイルス（PEDV, 2012-2014年に米国全土さらに日本全国で大流行して豚に「下痢：子豚は哺乳する力もなくなり死亡する」損耗を示した豚下痢症ウイルス。）

以下の成績によりコロナウイルスに対して非常に高い効果が得られた。ヒト新型コロナウイルスは実験者に感染するため、使用できないので、代用としてPEDV（コロナウイルス）を使用した。

コロナウイルスは同じ構造、特に太陽のコロナから来ている部分は共通の形状で、脂質に浮かんでいる形態である。コロナウイルスも遺伝子学的にも系統樹を作製できるクラスターに入り、基本的には同じ性状を有しているので、新型コロナウイルスにも同じ効果が得られると考えられる。

コロナウイルス（PEDV、NK94P6（NK）株）の1時間作用に対するエヴァウォーターの効果

エヴァウォーター濃度	500 TCID ₅₀	250 TCID ₅₀	125 TCID ₅₀	60 TCID ₅₀	50 TCID ₅₀
100ppm	+	+	+	+	+
50ppm	+	+	+	+	+
25ppm	+	+	+	+	+
12.5ppm	+	+	+	+	+
6.2ppm	+	+	+	+	+
3.1ppm	+	+	+	+	+
陽性対照	—	—	—	—	—

陰性対照には CPE がみられなかった。

コロナウイルス（PEDV、JM株）の1時間作用に対するエヴァウォーターの効果

エヴァウォーター濃度	5000 TCID ₅₀	2500 TCID ₅₀	1250 TCID ₅₀
100ppm	+	+	+
50ppm	+	+	+
25ppm	+	+	+
12.5ppm	+	+	+
6.2ppm	+	+	+
3.1ppm	+	+	+
陽性対照	—	—	—

陰性対照には CPE がみられなかった。

コロナウイルス（PEDV、NK株）の30分作用に対するエヴァウォーターの効果

エヴァウォーター 濃度	250 TCID ₅₀	125 TCID ₅₀	62.5 TCID ₅₀
100ppm	+	+	+
50ppm	+	+	+
25ppm	+	+	+
12.5ppm	+	+	+
6.2ppm	+	+	+
3.1ppm	+	+	+
1.5 ppm	+	+	+
陽性対照	—	—	—

陰性対照には CPE がみられなかった。

コロナウイルス（PEDV、JM株）の30分作用に対するエヴァウォーターの効果

エヴァウォーター 濃度	50000 TCID ₅₀	5000 TCID ₅₀	500 TCID ₅₀
100ppm	+	+	+
50ppm	—	+	+
25ppm	—	+	+
12.5ppm	—	+	+
6.2ppm	—	—	+
3.1ppm	—	—	+
1.5ppm	—	—	+
陽性対照	—	—	—

陰性対照には CPE がみられなかった。

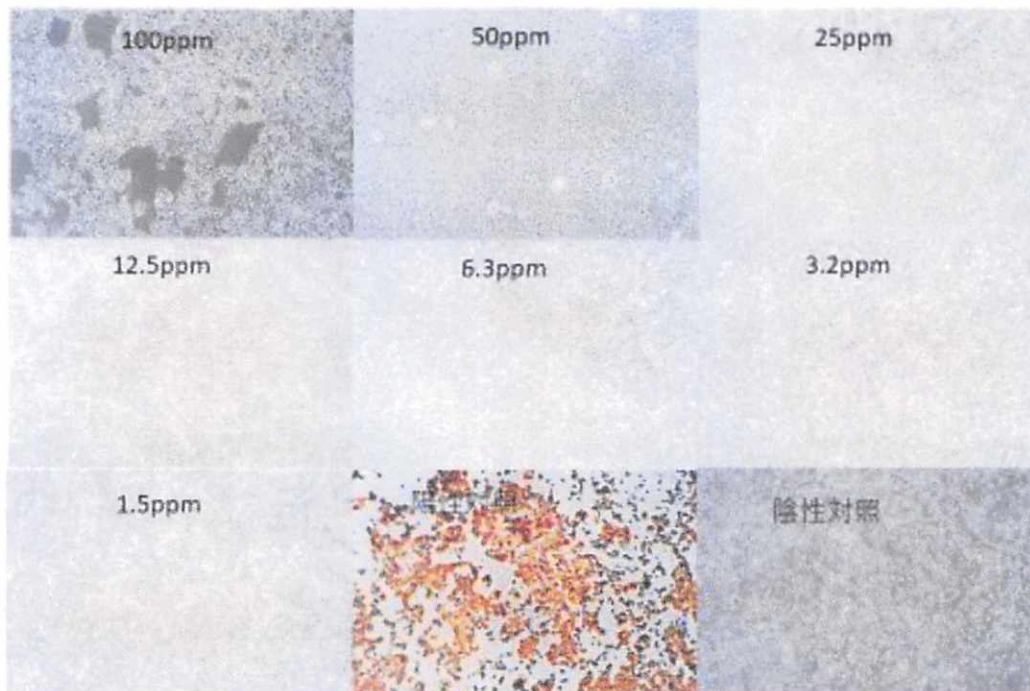
以上の結果からウイルス力価 250 TCID₅₀ と 5,000 TCID₅₀ への短時間作用させた場合の
効果について調べた

コロナウイルス (PEDV、NK株) の1分、2分、10分間作用に対する効果

ウイルス力価 250 TCID ₅₀	1分	2分	10分
100ppm	+	+	+
50ppm	+	+	+
25ppm	+	+	+
12.5ppm	+	+	+
6.2ppm	+	+	+
3.1ppm	+	+	+
1.5 ppm	+	+	+
陽性対照	—	—	—

陰性対照には CPE がみられなかった。

Effect of Corona virus (PEDV,NKstrain) and Evatec water for 1 Minute

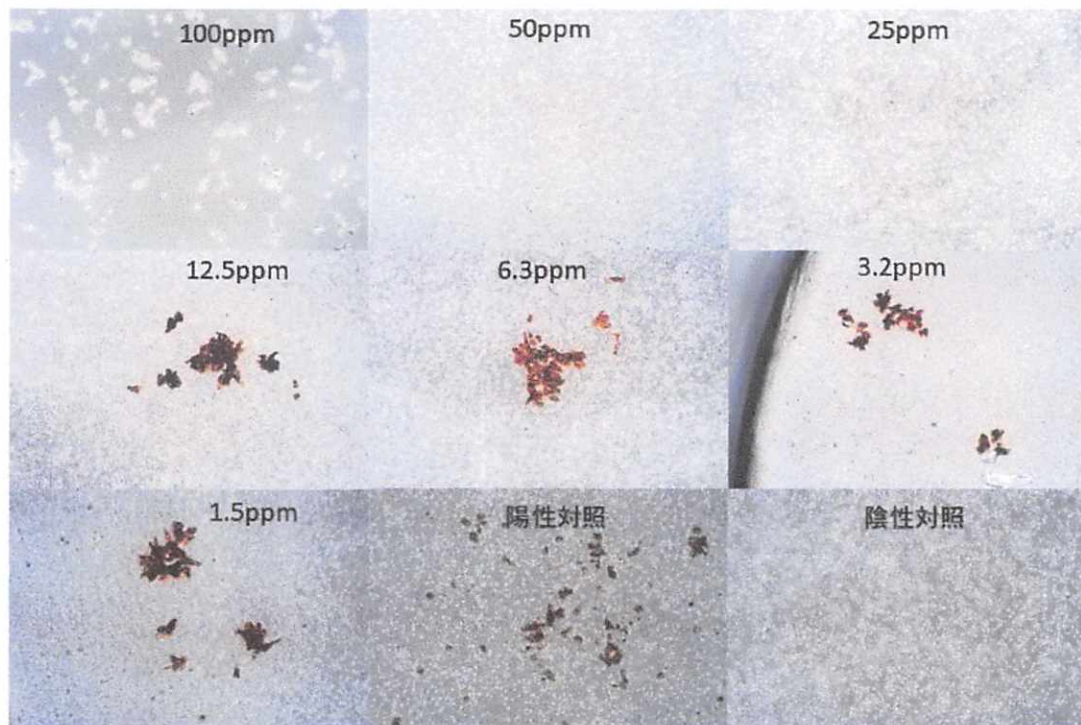


コロナウイルス（PEDV、JM株）の1分、2分、10分間作用に対する効果

5,000 TCID ₅₀	1分	2分	10分
100ppm	+	+	+
50ppm	+	+	+
25ppm	+	+	+
12.5ppm	±	±	+
6.2ppm	—	—	—
3.1ppm	—	—	—
1.5ppm	—	—	—
陽性対照	—	—	—

陰性対照：CPE はみられなかった。

Effect of Corona virus (PEDV, JM strain) and Evatec water for 1 Minute .



以上の実験の方法について以下に記載する。

材料と方法

エヴァウォーターの包装の安全性の確認。

エヴァウォーターを十分に振ってから滅菌蒸留水で希釈。

96 ウェルプレートに Vero 細胞を培養。

コロナ (PED) ウイルス：NK94P6(NK)株と JM 株 共に 1.2×10^7 TCID₅₀/ml (1.2×10^6 TCID₅₀/100ul)

希釈する。NK 株(1ul:2ml = 500 TCID₅₀/200ul)、JM 株(1ul:100ul = 5000ulTCID₅₀/200ul)

各希釈ウイルス 100ul に各希釈 100ul を加え、攪拌してスピンドウンする。

→ 1 : 1 希釈になる。NK 株(TCID₅₀/100ul=well)、JM 株(5000ulTCID₅₀/100ul=well)

37 度で、各時間 (1,2,10,30,60 分) 作用させる。

100ul を各 Vero 細胞培養ウェルに接種して、さらに血清入り維持培養液 50ul 追加

37°C、CO₂ インキュベーターで 4 日間培養

その後、細胞を固定して抗コロナウイルス抗体で免疫細胞化学にて染色

：陽性細胞が発色