

コロナウイルスに対する 被検液 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： 被検液

ウイルス：コロナウイルス（PEDV, 2012-2014年に大流行して豚に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PED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 株) の 1 時間作用に対する 被検液 の効果

被検液 濃度	500 TCID <sub>50</sub>	250 TCID <sub>50</sub>	125 TCID <sub>50</sub>	60 TCID <sub>50</sub>	50 TCID <sub>50</sub>
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 被検液 の効果

被検液 濃度	5000 TCID <sub>50</sub>	2500 TCID <sub>50</sub>	1250 TCID <sub>50</sub>
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、NK94P6株）の30分作用に対する被検液の効果

被検液 濃度	250 TCID <sub>50</sub>	125 TCID <sub>50</sub>	625 TCID <sub>50</sub>
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分作用に対する被検液の効果

被検液 濃度	50000 TCID <sub>50</sub>	5000 TCID <sub>50</sub>	500 TCID <sub>50</sub>
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。

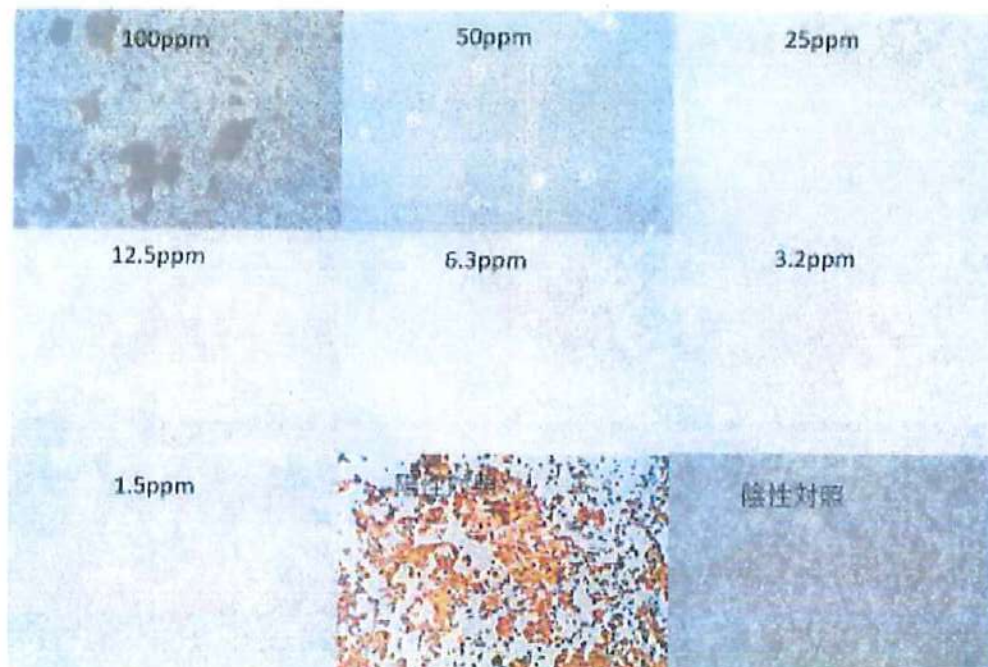
以上の結果からウイルス力価 250 TCID<sub>50</sub> と 5,000 TCID<sub>50</sub> への短時間作用させた場合の  
効果について調べた

コロナウイルス (PEDV、NK94P6 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 <sub>50</sub>	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

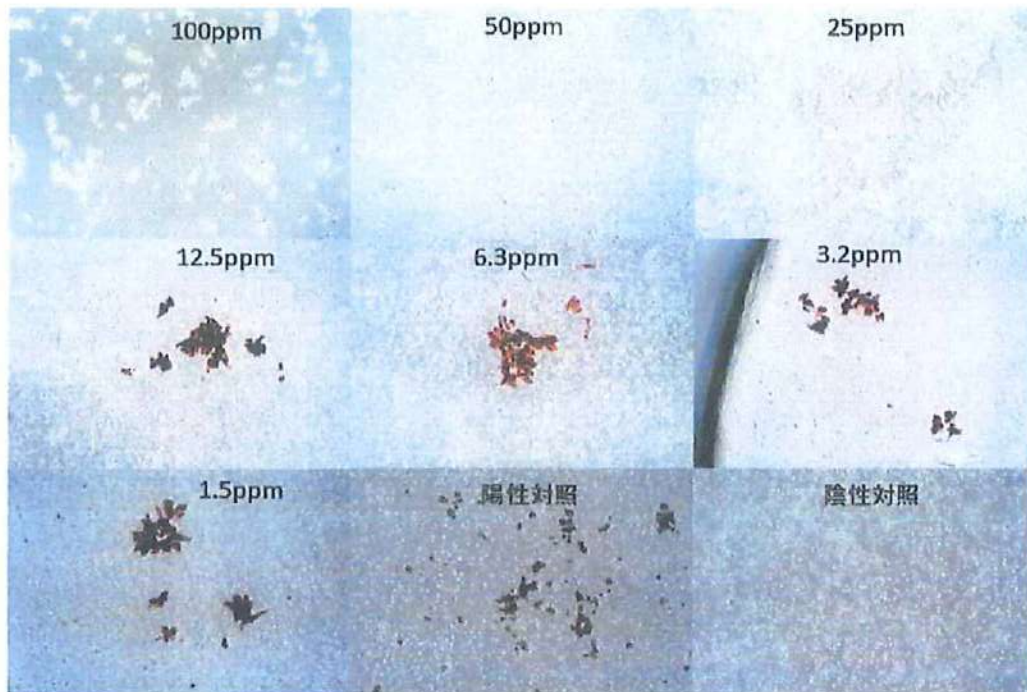


コロナウイルス（PEDV、JM株）の1分、2分、10分間作用に対する効果

5,000 TCID <sub>50</sub>	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

被検液 の包装の安全性の確認。

被検液 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：NK 株と JM 株 共に  $1 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub>/ml

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

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、CO<sub>2</sub> 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