

# 次亜塩素酸水処理によるSARS-CoV-2 と豚熱(CSF)ウイルスの不活化

玉城 英彦

Hiko Tamashiro

北海道大学名誉教授

一般財団法人エナジック教育福祉財団理事

# SARS-CoV-2の不活化

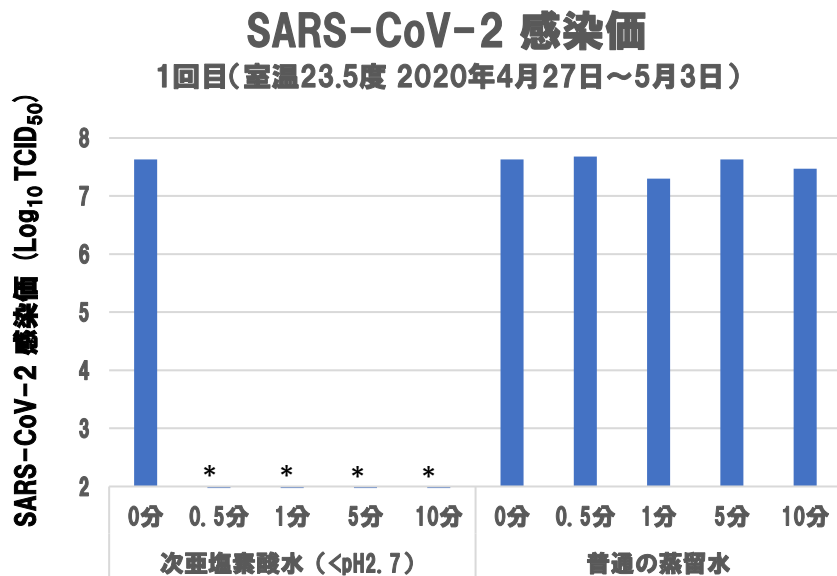
**実験のきっかけ:**

**不活化することが“期待”できる！  
No evidence!**

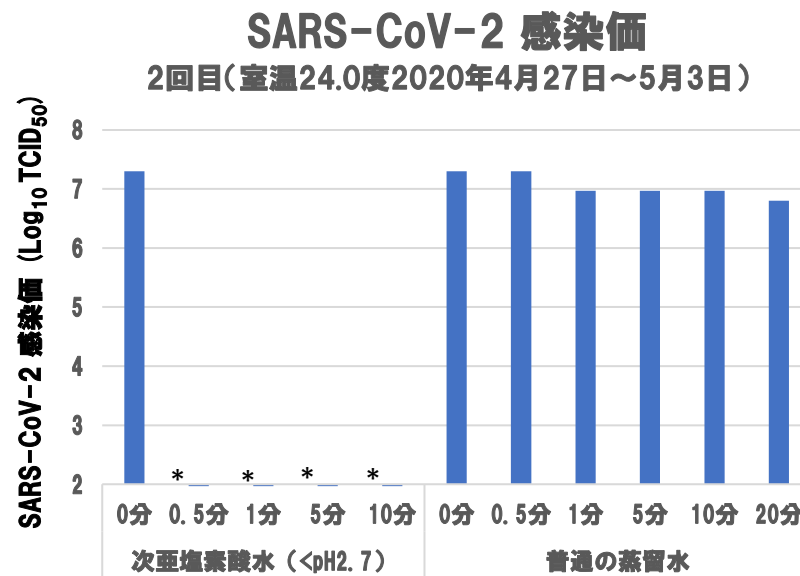
**検証1 (図1) . 強酸性水 (次亜塩素酸水) : <pH2.7、有効塩素濃度40 - 50 ppm  
供試水 : ウイルス液 = 9 : 1 で混合**

**検証2 (図2) . 次亜塩素酸水 : pH5.5、有効塩素濃度40 ppm  
供試水 : ウイルス液 = 19 : 1 で混合**

# 図1. 強酸性水(次亜塩素酸水)処理によるSARS-CoV-2の不活化



\*検出限界以下 (< 10<sup>1.97</sup> TCID<sub>50</sub>/ml)



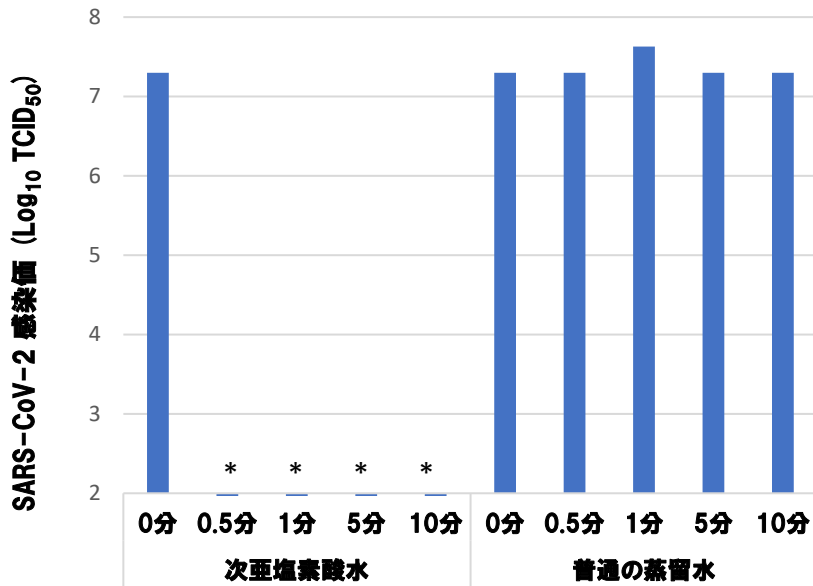
\*検出限界以下 (< 10<sup>1.97</sup> TCID<sub>50</sub>/ml)

**強酸性水(次亜塩素酸水): <pH2.7、有効塩素濃度(40-50 ppm)、ウイルス: JPN/TY/WK-521株**

- 供試水: ウイルス液(DMEM, 2%FCS含)=9:1で混合
- 反応時間: 30秒、1分、5分、10分、(20分)(23~24℃)
- 中和と培地調整: 1/10倍容の0.012Mチオ硫酸ナトリウム液添加の後に、10XMEM、1/50倍容のFCS、適量の重炭酸ナトリウム(pH調整のため)添加
- DMEM (2%FCS含)で10倍階段希釈
- 50 μl DMEM (2%FCS含)が入っている細胞(96穴プレート: TMPRSS2発現Vero E6)に、各希釈4穴に50 μlを添加
- 2-3日後、CPE確認、TCID<sub>50</sub>/ml算出
- 強酸性水(次亜塩素酸水溶液)の提供者: エナジック・インターナショナル

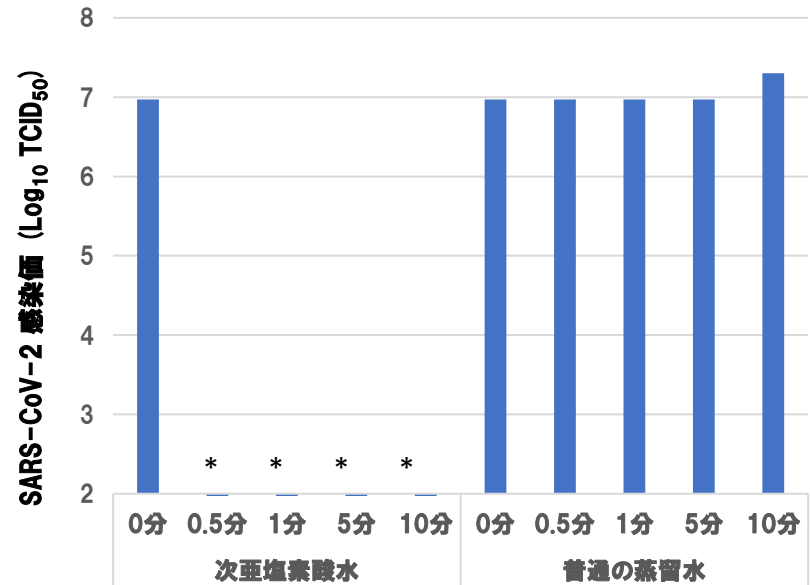
## 図2. 次亜塩素酸水処理によるSARS-CoV-2の不活化

1回目(2020年5月25日~28日)



\*検出限界以下( $\leq 10^{1.8}$  TCID<sub>50</sub>/ml)

2回目(2020年5月27日~30日)



\*検出限界以下( $\leq 10^{1.8}$  TCID<sub>50</sub>/ml)

**次亜塩素酸水: pH 5.5、有効塩素濃度 = 40 ppm、ウイルス: JPN/TY/WK-521株**

- 供試水: ウイルス液(DMEM, 2%FCS含) = 19:1で混合
- 反応時間: 30秒、1分、5分、10分(室温は、1回目、2回目とも23℃)
- 中和と培地調整: 1/10倍容の0.012Mチオ硫酸ナトリウム液添加の後に、1/10量の10XMEM、1/50量のFCS、適量の重炭酸ナトリウム(pH調整のため)添加
- DMEM (2%FCS含)で10倍階段希釈
- 50  $\mu$ l DMEM (2%FCS含)が入っている細胞(96穴プレート:TMPRSS2発現Vero E6)に、各希釈4穴に50  $\mu$ lを添加
- 3日後、CPE確認、TCID<sub>50</sub>/ml算出
- 電解質(食塩+塩酸)
- 次亜塩素酸水溶液の提供者: (株)日本エコ・システムズ

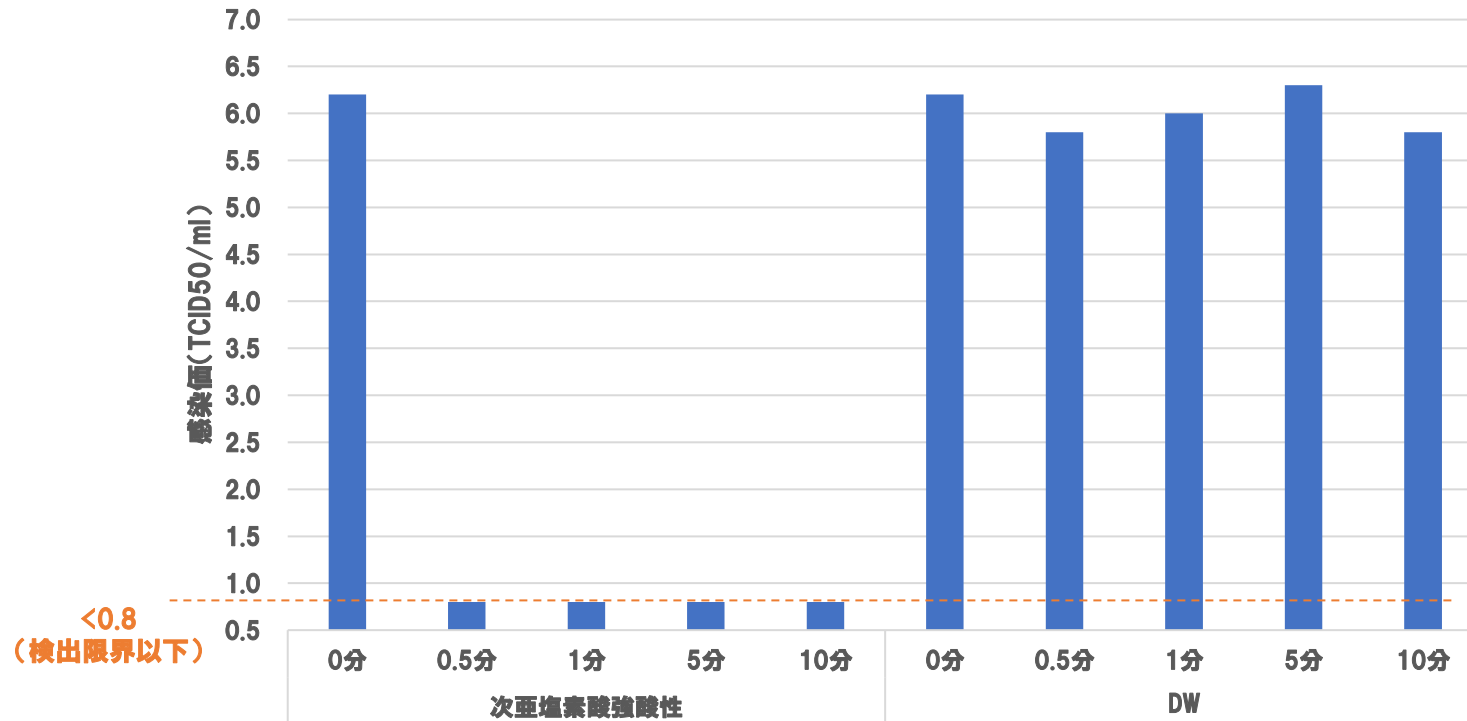
# 豚熱(CSF) ウイルスの不活化

## 次亜塩素酸水溶液の未来？ 特に畜産業界！

検証3 (図3) . 強酸性水 (次亜塩素酸水) : <pH2.7、有効塩素濃度40 - 50 ppm  
供試水 : ウイルス液 = 9 : 1 で混合

検証2 (図4) . 次亜塩素酸水 : pH5.5、有効塩素濃度40 ppm  
供試水 : ウイルス液 = 9 : 1、19 : 1、99 : 1 で混合

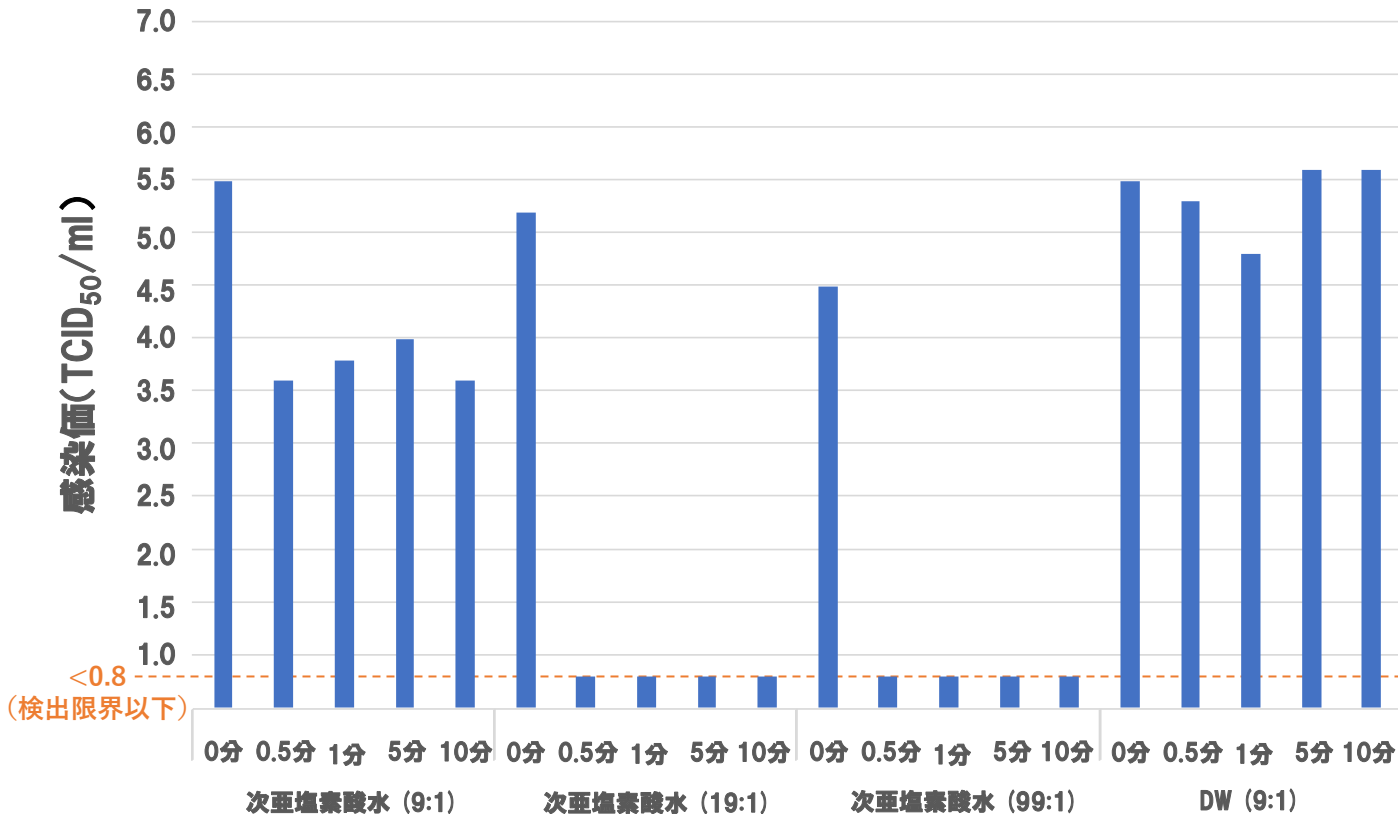
### 図3. 強酸性水(次亜塩素酸水)処理による豚熱(CSF)ウイルスの不活化



#### 強酸性水(次亜塩素酸水): <math>pH</math>2.7、有効塩素濃度40-50ppm、豚熱ウイルス: GPE-/Hibit株

- 供試水: ウイルス液(MEM, 2%ウマ血清含)=9:1で混合
- 試験実施日: 2020年4月28日~5月2日、室温24℃
- 反応時間: 30秒、1分、5分、10分。
- 中和と培地調整: 1/10倍容の0.012Mチオ硫酸ナトリウム液添加の後に、10XMEM、1/50倍容のウマ血清、適量の重炭酸ナトリウム(pH調整のため)添加。
- MEM (10%ウマ血清含)で10倍階段希釈。
- 96穴プレート4穴に10倍階段希釈液を50  $\mu$ lずつ添加、そこにブタ腎臓由来株化細胞(SK-L細胞)を100  $\mu$ l同時まきこみ。
- 4日後、Nano Glo HiBit Lytic Detection System(プロメガ)と反応させ、ルシフェラーゼ活性を測定、その後TCID<sub>50</sub>/mlを算出
- 強酸性水(次亜塩素酸水)溶液の提供者: エナジック・インターナショナル

# 図4. 次亜塩素酸水処理による豚熱(CSF)ウイルスの不活化



## 次亜塩素酸水:pH5.5、有効塩素濃度40ppm、豚熱ウイルス:GPE<sup>-</sup>/Hibit株

- 供試水:ウイルス液(MEM, 2%ウマ血清含)=9:1、19:1、99:1で混合
- 試験実施日:2020年6月9日~6月12日(室温24℃)
- 反応時間:30秒、1分、5分、10分。
- 中和と培地調整:1/10倍容の0.012Mチオ硫酸ナトリウム液添加の後に、10XMEM、1/50倍容のウマ血清、適量の重炭酸ナトリウム(pH調整のため)添加。
- MEM(10%ウマ血清含)で10倍階段希釈。
- 96穴プレート4穴に10倍階段希釈液を50μlずつ添加、そこにブタ腎臓由来株化細胞(SK-L細胞)を100μl同時まきこみ。
- 4日後、Nano Glo HiBit Lytic Detection System(プロメガ)と反応させ、ルシフェラーゼ活性を測定、その後TCID<sub>50</sub>/mlを算出。
- 次亜塩素酸水溶液の提供先:(株)電解水システムズ

# まとめ

1. HOCl（次亜塩素酸水溶液）の酸性度が高いほど、ウイルス不活化能が高い。
2. HOClの量にウイルス不活化能は比例する。
3. HOClのウイルス不活化はpHあるいは有効塩素濃度（ppm）に、または二つの相互作用で決まるか？
4. 私たちの実証条件下では、HOClは十分なウイルス不活化能を有することが確認された。
5. 従って、適切なガイドラインに沿って使えば、アルコールの代替品ではなく、物品や手指などに対する、独立した消毒剤としても十分に活用できる。
6. HOClの「畜産業界」などでの利用をより積極的に推進すべきである。
7. 夢の水溶液HOClの未来は？