

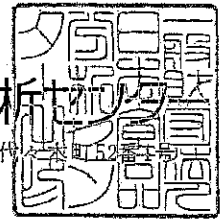
# 試験報告書

依頼者 株式会社 EM研究機構

一般財団法人

日本食品分析センター

東京都渋谷区元代々木町52番1号



検体 EM・1

表題 ウイルス不活化能試験

2013年(平成25年)10月10日当センターに提出された上記検体について試験した結果をご報告いたします。

## ウイルス不活化能試験

### 1 依頼者

株式会社 EM研究機構

### 2 検 体

EM-1

### 3 試験目的

検体のインフルエンザウイルスに対する不活化能試験を行う。

### 4 試験概要

検体希釈液にインフルエンザウイルスのウイルス浮遊液を添加，混合し，作用液とした。  
室温(20℃～25℃)で作用させ，30分後に作用液のウイルス感染価を測定した。  
なお，あらかじめ予備試験を行い，ウイルス感染価の測定方法について検討した。

### 5 試験結果

#### 1) 予備試験

MOPSを用いて調製した細胞維持培地(以下「MOPS細胞維持培地」という。)で作用液を10倍に希釈することにより，検体の影響を受けずにウイルス感染価が測定できることを確認した。

#### 2) ウイルス感染価の測定

結果を表-1に示した。

検体の100倍希釈液では，30分後の作用液1 mL当たりのウイルス感染価(logTCID<sub>50</sub>/mL)は開始時に比べ4.3以上減少した。

表-1 作用液のウイルス感染価測定結果

試験 ウイルス	対 象	濃 度	log TCID <sub>50</sub> /mL*1	
			開始時	30分後
インフルエンザ ウイルス	検 体	100倍希釈*2	5.8	<1.5
		1000倍希釈*2	5.8	5.7
	対 照	—	5.8	6.0

TCID<sub>50</sub>: median tissue culture infectious dose, 50 %組織培養感染量

開始時: 作用開始直後の対照のTCID<sub>50</sub>を測定し, 開始時とした。

対照: 精製水

作用温度: 室温(20 °C~25 °C)

<1.5: 検出せず

\*1 作用液1 mL当たりのTCID<sub>50</sub>の対数値

\*2 試験の直前に精製水で希釈した。

## 6 試験方法

### 1) 試験ウイルス

*Influenza A virus* (H1N1) A/PR/8/34 ATCC VR-1469 (インフルエンザウイルス)

### 2) 使用細胞

MDCK (NBL-2)細胞 ATCC CCL-34株 [大日本製薬株式会社]

### 3) 使用培地

#### ① 細胞増殖培地

イーグルMEM培地「ニッスイ」① [日水製薬株式会社]に牛胎仔血清を10 %加えたものを使用した。

② 細胞維持培地

以下の組成の培地を使用した。

イーグルMEM培地「ニッスイ」①	1000 mL
10 %NaHCO <sub>3</sub>	14 mL
L-グルタミン(30 g/L)	9.8 mL
100×MEM用ビタミン液	30 mL
10 %アルブミン	20 mL
0.25 %トリプシン	20 mL

③ MOPS細胞維持培地(pH緩衝用)

以下の組成の培地を使用した。

イーグルMEM培地「ニッスイ」①	1000 mL*
L-グルタミン(30 g/L)	9.8 mL
100×MEM用ビタミン液	30 mL
10 %アルブミン	20 mL
0.25 %トリプシン	20 mL

\* 20 mM MOPS[株式会社 同仁化学研究所]を用いて調製した。

4) ウイルス浮遊液の調製

① 細胞の培養

細胞増殖培地を用い、使用細胞を組織培養用フラスコ内に単層培養した。

② ウイルスの接種

単層培養後にフラスコ内から細胞増殖培地を除き、試験ウイルスを接種した。次に、細胞維持培地を加えて37 °C±1 °Cの炭酸ガスインキュベーター(CO<sub>2</sub>濃度：5 %)内で1～5日間培養した。

③ ウイルス浮遊液の調製

培養後、倒立位相差顕微鏡を用いて細胞の形態を観察し、細胞に形態変化(細胞変性効果)が起こっていることを確認した。次に、培養液を遠心分離(3000 r/min, 10分間)し、得られた上澄み液をウイルス浮遊液とした。

5) 試験操作

精製水を用いて調製した検体の100倍及び1000倍希釈液1 mLにウイルス浮遊液0.1 mLを添加，混合し，作用液とした。室温(20 °C～25 °C)で作用させ，30分後にMOPS細胞維持培地を用いて10倍に希釈し，ウイルス感染価を測定した。

なお，対照として精製水を用いて同様に試験し，開始時についても測定を行った。

6) ウイルス感染価の測定

細胞増殖培地を用い，使用細胞を組織培養用マイクロプレート(96穴)[AGC旭硝子株式会社]内で単層培養した後，細胞増殖培地を除きMOPS細胞維持培地を0.1 mLずつ加えた。次に，10倍希釈後の作用液及び対照を，MOPS細胞維持培地を用いて10倍段階希釈した。その希釈液0.1 mLを4穴ずつに接種し，37 °C±1 °Cの炭酸ガスインキュベーター(CO<sub>2</sub>濃度：5 %)内で4～7日間培養した。培養後，倒立位相差顕微鏡を用いて細胞の形態変化(細胞変性効果)の有無を観察し，Reed-Muench法により50 %組織培養感染量(TCID<sub>50</sub>)を算出して作用液1 mL当たりのウイルス感染価に換算した。

以 上

運営：(株)DND研究所

# Digital New Deal

デジタルニューディール

大学発ベンチャー起業支援サイト

フロント

新規登録

お知らせ

リンク集

初めての方

問い合わせ

メッセージ

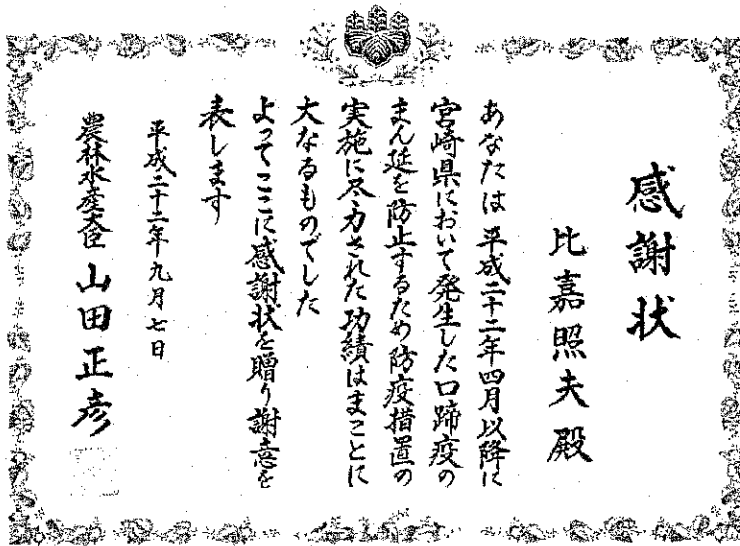
ツイート 2 いいね! 29 +1 0 0

◆ DND大学発ベンチャー支援情報 ◆ 2015/08/05 <http://dndi.jp/>

## 「検証 朝日新聞とツイッター」 -そこまでやるか、EM叩き-

第2回

・大阪大学、菊池氏に汚された口蹄疫感謝状



「ニセ科学」というレッテルで、EM（有用微生物群）の環境活動が、膨大なデマ情報と誇張のツイッター・アビュースにさらされている。ツイッター・アビュースとは、ツイッターでの悪意のある誹謗・中傷のことを言うのだが、近年、ますますエスカレートして社会問題になっているのだ。陰湿でしかも悪意に満ちた投稿が連続すると、もう誰にも止められない。それは集団的なイジメのようなものだ。このまま放置すれば人を死に追いやる危険すらあるのではないか。このようなツイッターによるEMイジメの実態を3年余りにわたって取材をしてきた。その現実を報告しようと思う。

### ◇EMをこき下ろす菊池氏

初回に引き続き大阪大学教授、菊池誠氏である。ある方の連絡で菊池氏の講演の一部始終を録音したテープを聞いた。この発言の要旨を何人かの知人に見せたら、「デタラメを言っている、ひどいなあ」と表情を曇らすのである。あとで詳述するが、菊池氏の講演終了後、参加者の中学教員が立って「(そういう発言は) 訴訟になるのではないか」と質す一幕があった。中高生がいるというのに聞くに堪えない発言を心配したようだ。

2013年10月12日、岡山理科大の正門横の教室で、付属の中、高の生徒、教員、それに岡山理科大に通う学生、一般市民を対象とした「公開講演」が開かれた。司会は、菊池氏を招いた岡山理科大の講師が務めた。菊池氏の肩書は大阪大学サイバーメディアセンター教授、演題が「ニセ科学のある風景」となっていた。菊池氏の講演は、とくにEMに関しては学術的というより、その多くは偏見と悪意にみちていた。宮崎県の口蹄疫対応について「EMは害にしかならない」、「科学っぽい商売」などとのデマ情報を並べ、EMを「断罪」していたのである。菊池氏が、「EM菌」に触れたのは講演の終盤で、その取っ掛かりからEMをこき下ろした。

## ◇「どどん暴走」と比嘉氏を名指して攻撃

菊池氏は、まず全面否定から入った。「EM菌は琉球大学の比嘉という先生が提唱されたもので数十種類の微生物を調合させたというものです」と説明を加えて、「ま、そんなものは作れっこないで、これは間違っている」と、EM（有用微生物群）の存在そのものを「作れっこない」の一言で蹴散らした。

菊池氏の舌鋒は、次にEMの開発者で琉球大学名誉教授の比嘉照夫氏に向けられた。菊池氏は「だんだん暴走していきんですね。比嘉さんが暴走していく」と暴走というフレーズを繰り返した。そして、菊池氏は、「EM菌は農業を含めほとんどすべての効果が検証されていません」と決めつけると、すぐに「検証されていないんですよ」と強調し、「検証されていないというのは大変恐ろしい」と煽るのである。

EMの効果は歴然であり国内外で数多くの検証データや成果が報告されている。菊池氏の講演会では毎度のことだが、比嘉氏の人格否定までして貶めようとする動機はなんなのか、と首をかしげざるをえない。

## ◇懸命の口蹄疫対応についてEM側を罵詈雑言

菊池氏が、講演の中でその恐ろしいEM事例として問題にしたのは、2010年4月に宮崎県で発生した口蹄疫での対応だ。

確かに比嘉氏は、自ら現地に向かった。そして、その対策について具体的な方法を提示した。が、菊池氏が問題にした発言はデタラメだった。

沖縄のEM研究機構（喜屋武尚社長）や名古屋に本社があるEM生活（比嘉新社長）、東京からはNPO地球環境共生ネットワークの職員ら総勢14人が現地入りし、現地の対策本部や新富町の役場から許可を得てEM活性液を現地で大量に培養し、悪臭抑制、感染拡大抑制のため、動噴や散水車で散布したのだ。現地の対策本部の関係者や当該市役所や町役場の方々も不眠不休で奮闘された。みんな一緒に力を合わせたのだ。

ほぼ2ヶ月、新富町の現場に入ったEM研究機構の研究部長、奥本秀一氏は、この菊池氏の発言内容を見て、「現場を見ていないのにどうしてこんな発言になるのか、恐ろしいのはむしろ菊池氏の発言の方ではないでしょうか」と言った。

彼は、山口大学農学部を卒業し青年海外協力隊員として中米ホンジュラス共和国に赴任、任期満了後、コスタリカの熱帯農業研究教育センターに留学し修士課程を終えて同センター及びコスタリカ大学で、有用微生物を利用した生物防除の研究と有機農法の開発と普及に従事した。いわば、微生物研究のキャリアを持つ工学博士なのだ。どこその学者のように運営交付金で保証されながら涼しい研究室で個人攻撃する者と気構えが違うのである。今から20年前、コスタリカで比嘉氏と出会って以来、比嘉氏に師事、EM研究機構に入社した。



その奥本氏が宮崎県に入った5月下旬といえば、殺処分の対象は15万頭を超えていたという。殺処分後の埋却地の確保が難航した。そのうえ殺処分が進んでいくなかで埋却したあとの用地からの悪臭がひどくなっていた。気温が上昇し腐敗臭が鼻

を突く。近隣住民から苦情が殺到するという新たな事態に直面していたのだ。埋却地が確保できて悪臭による近隣住民からの反発が強まれば、肝心の埋却作業そのものが暗礁に乗り上げる懸念があった。対策本部の必死の説得でワクチン接種がほぼ終了したものの、梅雨入りを控えた家畜の殺処分、埋却措置の時期と重なりにまさに正念場を迎えていたのである。

#### ◇凄惨を極める埋却処理現場

口蹄疫ウイルスは、牛や豚等の鼻や口に付着し体内で増殖を始める。牛では7日-10日程度の潜伏期を経て発病するが、感染した牛からは息やよだれによって大量のウイルスが撒き散らされ、別の牛に感染していく、とされている。

この強い感染力のために口蹄疫発症の報告をうけて感染した家畜をただちに殺処分し、体内のウイルスを死滅させることで感染拡大の防止を図らなければならない。家畜伝染予防法（家伝法）に基づく防疫マニュアルでは、発生農家から、10キロ以内の牛豚の移動は一切禁止、20キロ以内についても搬出禁止、いわゆる屠場への出荷も市場に牛を出すことも禁止となる。

EM側がその防疫マニュアルを無視するわけではない。マニュアルには現場での緊急事態にすべて対応できるということでもない。凄惨を極める埋却処理に伴う悪臭対策についてはお手上げ状態だった。

ウイルスに感染した牛や豚を殺処分する時の家畜農家の皆さんがどんな思いだったのか。しかし、法律では殺処分した家畜は、所有者の自前の畑に埋却しなければならない。当時の農水副大臣（のちに農水大臣に就任）で現地の対策本部で陣頭指揮にあたった山田正彦氏の苦悩もそこにあった。

所有者の土地にごだわると、埋却が遅々として進まない。埋却を終えた家畜が数百頭で、埋却ができないで残された家畜が数万頭という事態にも直面していた。埋却が遅れると、大量のウイルスが飛散し続ける。そのため、埋却は途中から国有地や公共の土地を手当てして行われるように切り替えられた。山田氏の英断だった。

地元市町、宮崎県知事らとの調整は難航した。ワクチンの接種を受け入れるか、どうかの対立、補償額の算定とギリギリの折衝、ワクチン接種や殺処分を担う獣医師の確保の難題、交通規制や移動車両の消毒など、その現場の対策はし烈を極めていた。

その中で最も深刻だったのが悪臭問題だった。市販の消臭剤を大量にまいたら、それまでの悪臭に加え化学消臭剤の臭いがまぜこぜになって異様な悪臭となった。埋却の場所をやっとの思いで確保しても埋却場所からのひどい悪臭で近隣住民からの苦情が殺到し、埋却作業が滞る事態となっていたのだ。

#### ◇元山田農水大臣渾身の『口蹄疫レクイエム』

現場の状況は、元農水大臣、山田氏による『口蹄疫レクイエム』（KKロングセラーズ）が克明に捉えている。口蹄疫ウイルスに関する何か所はその本を引用した。奥本氏の証言やこの本を参考にしながらEMがどのような経緯で現地対策に加わるようになったのかについても説明しよう。

埋却は、その場所によって違いがあるが、幅5m、深さ7m、長さは長いところで100m以上もあった。そんな長方形の穴を重機で掘って底と側面にシートを敷く。そこに殺処分した牛や豚を重機で一頭ずつ、二列に並べてその上に消毒用の石灰をまく。さらに牛豚の上にまた重ねるように二列に並べ石灰をまいて土をかぶせていくのだ。が、牛豚の死骸はそのまま埋められているため、上にのった土や家畜の重みで内臓が腐敗し、ガスが発生する。数日すると、腹が破裂して内臓もろとも不気味な音を立てながらガスが噴出し、体液や血液までも溢れ出る。地表一帯は異様な悪臭を放つ血の海と化すところも少なくなかった。