

# 確認試験報告書

1999年12月21日  
株式会社 エスアールエル  
ウイルス細菌部 核酸・ウイルス課



## アデノウイルス3型に対する抗ウイルス効果試験

### 1. 試験ウイルス

アデノウイルス3型標準株

### 2. 試験検体

滅菌精製水に、殺菌パウダー（カキガラ主原料）を0.05%濃度で添加、混合し、試験検体とした。

### 3. 培養細胞及び培養液

HEp-2細胞（ヒト喉頭癌由来細胞）

Eagle's-MEM培養液(希釈用)及び5%FBS加Eagle's-MEM培養液

### 4. 試験方法

#### a. 試験液の調製

試験検体9mlにウイルス液1mlを添加、混合し、室温で5分、15分、30分、60分間反応後、0.2 $\mu$ m滅菌フィルターで濾過したろ液を、Eagle's-MEM培養液で $10^{-1}$ ～ $10^{-8}$ 希釈したものを試験液とした。

#### b. 細胞の調整

HEp-2細胞を、細胞数 $1.4 \times 10^5$ /mlに調整したものを96穴マイクロプレートの各ホールに100 $\mu$ lずつ滴下し、用時調整した。

#### c. 方法

HEp-2細胞の添加された96穴マイクロプレートに、各試験液を25 $\mu$ lずつ6ホールに滴下した。35 $^{\circ}$ Cで7日間培養を行い、試験液のウイルス感染価を測定した。また、滅菌精製水を対照とし、ウイルス液添加直後及び60分間後のウイルス感染価を同様に測定した。

\* ウイルス感染価(TCID<sub>50</sub>：50%培養細胞感染価)は、組織培養細胞におけるCPE(細胞変性効果)を指標とするウイルスの単位であり、常法により算出した。

### 5. 試験結果

結果を表1に示した。

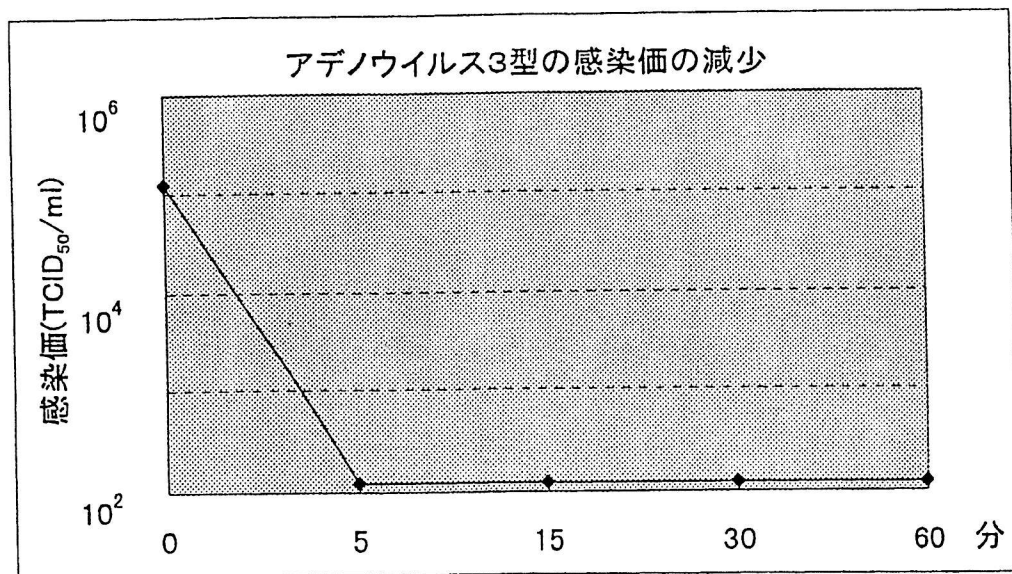
殺菌パウダー処理により、アデノウイルス3型においては、 $1.0 \times 10^3$  (1/1000)以上の感染価の減少が認められた。

表1 試験液のウイルス感染価(TCID<sub>50</sub>/ml)

試験ウイルス	区分	開始時	5分後	15分後	30分後	60分後
アデノウイルス3型	試験液	***	$< 1.2 \times 10^2$	$< 1.2 \times 10^2$	$< 1.2 \times 10^2$	$< 1.2 \times 10^2$
	対照	$1.2 \times 10^5$	***	***	***	$1.2 \times 10^5$

\*  $1.2 \times 10^2$  : 本測定系における測定限界値

\*\*\* : 測定せず



## 単純ヘルペスウイルス1型による抗ウイルス効果試験

### 1. 試験ウイルス

単純ヘルペスウイルス1型標準株

### 2. 試験検体

滅菌精製水に、殺菌パウダー（カキガラ主原料）を0.05%濃度で添加、混合し、試験検体とした。

### 3. 培養細胞及び培養液

MA104細胞（アカゲザル腎由来細胞）

Eagle's-MEM培養液(希釈用)及び5%FBS加Eagle's-MEM培養液

### 4. 試験方法

#### a. 試験液の調製

試験検体9mlにウイルス液1mlを添加、混合し、室温で5分、15分、30分、60分間反応後、0.2 $\mu$ m滅菌フィルターで濾過したろ液を、Eagle's-MEM培養液で $10^{-1}$ ～ $10^{-8}$ 希釈したものを試験液とした。

#### b. 細胞の調整

MA104細胞は、細胞数 $3.0 \times 10^5$ /mlに調整したものを96穴マイクロプレートの各ホールに100 $\mu$ lずつ滴下し、37°C、5%CO<sub>2</sub>下で3日間培養したものを使用した。

#### c. 方法

MA104細胞は、あらかじめ、96穴マイクロプレートの培養液を新しい5%FBS加Eagle's-MEM培養液に交換した。準備したMA104細胞に各試験液を25 $\mu$ lずつ6ホールに滴下した。35°Cで7日間培養を行い、試験液のウイルス感染価を測定した。また、滅菌精製水を対照とし、ウイルス液添加直後及び60分間後のウイルス感染価を同様に測定した。

\* ウイルス感染価(TCID<sub>50</sub>：50%培養細胞感染価)は、組織培養細胞におけるCPE(細胞変性効果)を指標とするウイルスの単位であり、常法により算出した。

5. 試験結果

結果を表2に示した。

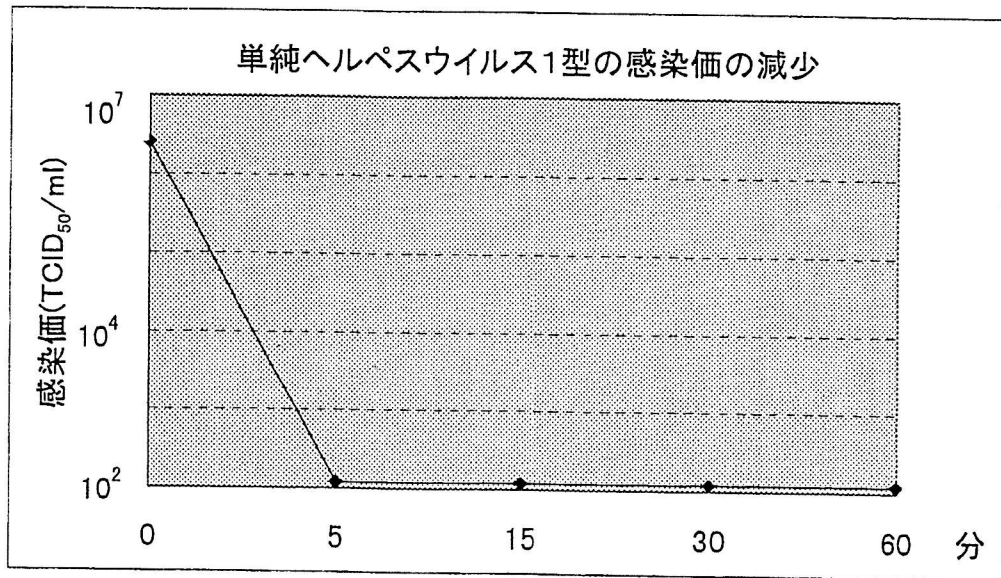
殺菌パウダー処理により、単純ヘルペスウイルス1型においては、 $2.2 \times 10^6$  ( $1/22000$ ) 以上の感染価の減少が認められた。

表2 試験液のウイルス感染価(TCID<sub>50</sub>/ml)

試験ウイルス	区分	開始時	5分後	15分後	30分後	60分後
単純ヘルペスウイルス1型	試験液	***	$< 1.2 \times 10^2$	$< 1.2 \times 10^2$	$< 1.2 \times 10^2$	$< 1.2 \times 10^2$
	対照	$2.6 \times 10^6$	***	***	***	$2.6 \times 10^6$

\*  $1.2 \times 10^2$  : 本測定系における測定限界値

\*\*\* : 測定せず



## インフルエンザウイルスA型による抗ウイルス効果試験

### 1. 試験ウイルス

インフルエンザウイルスA型標準株

### 2. 試験検体

滅菌精製水に、殺菌パウダー（カキガラ主原料）を0.05%濃度で添加、混合し、試験検体とした。

### 3. 培養細胞及び培養液

MDCK細胞（イヌ腎由来細胞）

MEM培養液(希釈用)及び0.2%BSA加MEM培養液

### 4. 試験方法

#### a. 試験液の調製

試験検体9mlにウイルス液1mlを添加、混合し、室温で5分、15分、30分、60分間反応後、0.2 $\mu$ m滅菌フィルターで濾過したろ液をMEM培養液で $10^{-1}$ ～ $10^{-8}$ 希釈したものを試験液とした。

#### b. 細胞の調整

MDCK細胞を、細胞数 $1.5 \times 10^5$ /mlに調整したものを96穴マイクロプレート各ホールに100 $\mu$ lずつ滴下し、37°C、5%CO<sub>2</sub>下で3日間培養したものを使用した。

#### c. 方法

MDCK細胞はPBSで細胞を洗浄後、試験液を25 $\mu$ lずつ滴下し、33°C、5%CO<sub>2</sub>下で1時間吸着後、0.2%BSA加MEM培養液100 $\mu$ lを添加した。33°C5%CO<sub>2</sub>下で7日間培養を行い、試験液のウイルス感染価を測定した。また、滅菌精製水を対照とし、ウイルス液添加直後及び60分間後のウイルス感染価を同様に測定した。

\* ウイルス感染価(TCID<sub>50</sub>：50%培養細胞感染価)は、組織培養細胞におけるCPE(細胞変性効果)を指標とするウイルスの単位であり、常法により算出した。

## 5. 試験結果

結果を表3に示した。

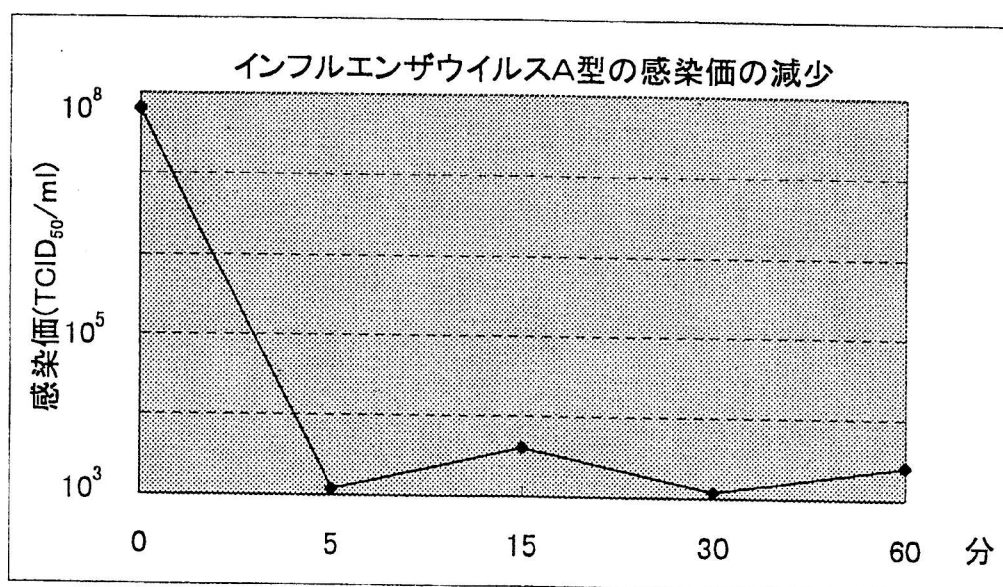
殺菌パウダー処理により、インフルエンザウイルスA型においては、 $1.6 \times 10^4$  (1/16000) の感染価の減少が認められた。

表3 試験液のウイルス感染価(TCID<sub>50</sub>/ml)

試験ウイルス	区分	開始時	5分後	15分後	30分後	60分後
インフルエンザウイルスA型	試験液	***	$< 1.2 \times 10^3$	$4.0 \times 10^3$	$< 1.2 \times 10^3$	$2.5 \times 10^3$
	対照	$6.3 \times 10^7$	***	***	***	$6.3 \times 10^7$

\*  $1.2 \times 10^3$  : 本測定系における測定限界値

\*\*\* : 測定せず



## アデノウイルス3型に対する抗ウイルス効果試験

### 1. 試験ウイルス

アデノウイルス3型標準株

### 2. 試験検体

滅菌精製水に、殺菌パウダー（カキガラ主原料）を0.05%濃度で添加、混合し、試験検体とした。

### 3. 培養細胞及び培養液

HEp-2細胞（ヒト喉頭癌由来細胞）

Eagle's-MEM培養液(希釈用)及び5%FBS加Eagle's-MEM培養液

### 4. 試験方法

#### a. 試験液の調製

試験検体9mlにウイルス液1mlを添加、混合し、室温で5分、15分、30分、60分間反応後、0.2 $\mu$ m滅菌フィルターで濾過したろ液を、Eagle's-MEM培養液で $10^{-1}$ ～ $10^{-8}$ 希釈したものを試験液とした。

#### b. 細胞の調整

HEp-2細胞を、細胞数 $1.4 \times 10^5$ /mlに調整したものを96穴マイクロプレートの各ホールに100 $\mu$ lずつ滴下し、用時調整した。

#### c. 方法

HEp-2細胞の添加された96穴マイクロプレートに、各試験液を25 $\mu$ lずつ6ホールに滴下した。35 $^{\circ}$ Cで7日間培養を行い、試験液のウイルス感染価を測定した。また、滅菌精製水を対照とし、ウイルス液添加直後及び60分間後のウイルス感染価を同様に測定した。

\* ウイルス感染価(TCID<sub>50</sub>：50%培養細胞感染価)は、組織培養細胞におけるCPE(細胞変性効果)を指標とするウイルスの単位であり、常法により算出した。



5. 試験結果

結果を表1に示した。

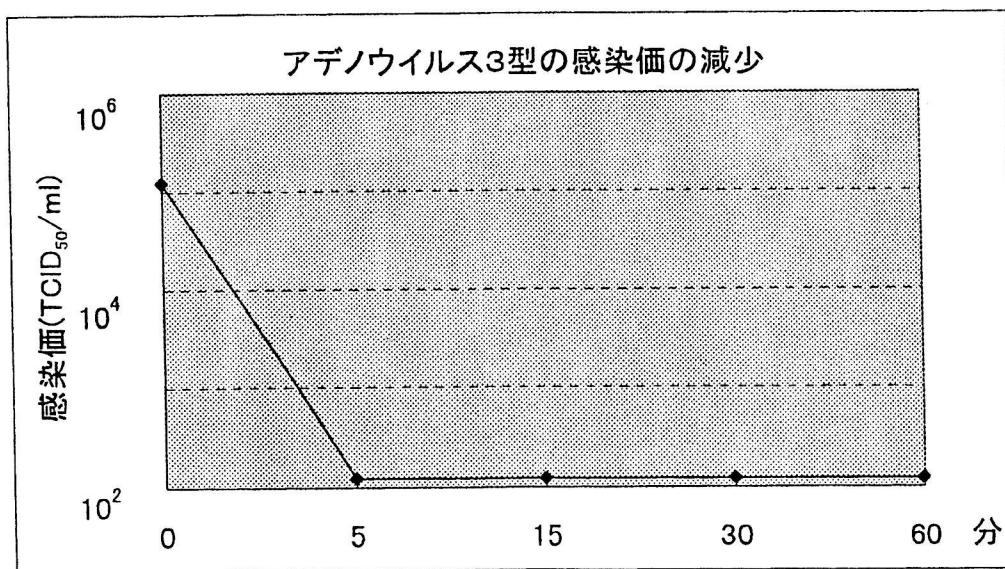
殺菌パウダー処理により、アデノウイルス3型においては、 $1.0 \times 10^3$  (1/1000) 以上の感染価の減少が認められた。

表1 試験液のウイルス感染価(TCID<sub>50</sub>/ml)

試験ウイルス	区分	開始時	5分後	15分後	30分後	60分後
アデノウイルス3型	試験液	***	$< 1.2 \times 10^2$	$< 1.2 \times 10^2$	$< 1.2 \times 10^2$	$< 1.2 \times 10^2$
	対照	$1.2 \times 10^5$	***	***	***	$1.2 \times 10^5$

\*  $1.2 \times 10^1$  : 本測定系における測定限界値

\*\*\* : 測定せず



## 単純ヘルペスウイルス1型による抗ウイルス効果試験

### 1. 試験ウイルス

単純ヘルペスウイルス1型標準株

### 2. 試験検体

滅菌精製水に、殺菌パウダー（カキガラ主原料）を0.05%濃度で添加、混合し、試験検体とした。

### 3. 培養細胞及び培養液

MA104細胞（アカゲザル腎由来細胞）

Eagle's-MEM培養液(希釈用)及び5%FBS加Eagle's-MEM培養液

### 4. 試験方法

#### a. 試験液の調製

試験検体9mlにウイルス液1mlを添加、混合し、室温で5分、15分、30分、60分間反応後、0.2 $\mu$ m滅菌フィルターで濾過したろ液を、Eagle's-MEM培養液で $10^{-1}$ ～ $10^{-8}$ 希釈したものを試験液とした。

#### b. 細胞の調整

MA104細胞は、細胞数 $3.0 \times 10^5$ /mlに調整したものを96穴マイクロプレートの各ホールに100 $\mu$ lずつ滴下し、37°C、5%CO<sub>2</sub>下で3日間培養したものを使用した。

#### c. 方法

MA104細胞は、あらかじめ、96穴マイクロプレートの培養液を新しい5%FBS加Eagle's-MEM培養液に交換した。準備したMA104細胞に各試験液を25 $\mu$ lずつ6ホールに滴下した。35°Cで7日間培養を行い、試験液のウイルス感染価を測定した。また、滅菌精製水を対照とし、ウイルス液添加直後及び60分間後のウイルス感染価を同様に測定した。

\* ウイルス感染価(TCID<sub>50</sub>：50%培養細胞感染価)は、組織培養細胞におけるCPE(細胞変性効果)を指標とするウイルスの単位であり、常法により算出した。

5. 試験結果

結果を表2に示した。

殺菌パウダー処理により、単純ヘルペスウイルス1型においては、 $2.2 \times 10^4$  ( $1/22000$ ) 以上の感染価の減少が認められた。

表2 試験液のウイルス感染価(TCID<sub>50</sub>/ml)

試験ウイルス	区分	開始時	5分後	15分後	30分後	60分後
単純ヘルペスウイルス1型	試験液	***	$< 1.2 \times 10^2$	$< 1.2 \times 10^2$	$< 1.2 \times 10^2$	$< 1.2 \times 10^2$
	対照	$2.6 \times 10^6$	***	***	***	$2.6 \times 10^6$

\*  $1.2 \times 10^2$  : 本測定系における測定限界値

\*\*\* : 測定せず

