

# 最終報告書

マスクのインフルエンザウィルス性能試験

学校法人 北里研究所  
北里大学北里研究所メデイカルセンター病院  
研究部門 医療環境科学センター



表題 不織布マスクの抗ウイルス性能試験

試験番号 00916

目的： エコワン株式会社製不織布マスクの浮遊ウイルスに対する除去性能に関して、インフルエンザウイルス A 型を指標に評価する。

試験委託者

名称： エコワン株式会社

所在地： 神奈川県横浜市青葉区美しが丘西 2-26-27  
Tel:045-509-1612 Fax:045-509-1613

担当者： 稲葉 喜一

試験受託者

名称： 学校法人北里研究所 北里大学北里研究所メディカルセンター病院  
研究部門 医療環境科学センター

所在地： 埼玉県北本市荒井 6-100  
Tel: 03-5791-6179 Fax: 03-3444-5499

担当者： 小林 憲忠

試験実施施設

名称： 学校法人北里研究所  
北里大学北里研究所メディカルセンター病院  
バイオメディカル棟 1F 感染実験室  
Tel: 048-593-1236 Fax: 048-593-1262

実験担当者： 小林 憲忠  
山崎 大賀

試験責任者： 小林 憲忠

## 方法

### 1. 材料

#### 1.1 被験機材

- a 名称： 不織布マスク A (INFLU-LIFESAVER)  
コード番号： インフルライフセーバー平型  
備考： 4層構造
- b 名称： 不織布マスク B (INFLU-LIFESAVER 3D)  
コード番号： インフルライフセーバー立体[3D]型  
備考： 5層構造

#### 1.2 使用ウイルス株

インフルエンザウイルス A 型

- 名称： Influenza virus A (H1/N1)  
株名： PR/8/34

#### 1.3 使用細胞

- 名称： MDCK 細胞  
株名： RCB0995  
備考： イヌ (♀性 Cocker Spaniel) 腎臓由来上皮様細胞使用培地

#### 1.4 使用培地

##### a ウイルス培養用細胞増殖培地

10%FBS 含有イーグル MEM (Gibco; Invitrogen Corp., CA, USA)  
( $\text{NaHCO}_3$ 、Glutamine および Penicillin/Streptomycin 含有)

##### b ウイルス維持培地

1%BSA 含有イーグル MEM (Gibco)  
( $\text{NaHCO}_3$ 、Glutamine、vitamin、葉酸、biotin、trypsin および Penicillin/Streptomycin 含有)

## 2. 試験方法

### 2.1 ウイルスの調製

超低温冷凍庫 (荏原) に凍結乾燥保存してある Influenzavirus A (IFVA: インフルエンザウイルス A 型; PR8 株) を細胞増殖用培地中 (10%FBS 含有イーグル MEM (Gibco) で MDCK 細胞 (イヌ腎細胞; RCB0995 株) に M. O. I (Multiplicity of

infection) 0.01 で感染させ、37°C5%CO<sub>2</sub> 存在下で 72 時間培養した (1 継代)。連続して 5 代継代したものを大量培養し、蔗糖密度勾配超高速遠心法によりウイルス液を分離・精製し、1mL ずつ分注後 -80° C 超低温冷凍庫にて実験使用時まで保存した。ウイルス液の一部は、10 倍階段希釈法にて細胞変性効果を確認し、ウイルス感染力価 (TCID<sub>50</sub>) を測定した。

## 2.3 実験方法

### a 測定条件

噴霧時間：10 分、20 分、30 分間

試験回数：3 回/使用マスク毎

回収容量：30mL /回 (10 分、20 分、30 分間)

### b 測定方法

①ネブライザーに  $1.0 \times 10^{-6.30}$  TCID<sub>50</sub>/mL 濃度に調製した influenza virus A (H1/N1;PR/8/34 株) を 50mL 入れ、試験ボックス (300x300x600mm ; 300x300x300mm のボックスを連結した物) 内に噴霧注入した。1 試験毎に influenza virus A 50mL を入れ替えた。マスクは試験ボックス中央部 (連結部) の穴 (60mmφ) を塞ぐ形でセットした。

②ウイルス液の噴霧開始と同時に試験ボックス内マスク通過後の空気をインピンジャーで 10、20 および 30 分間回収した。なお、通気条件はインピンジャーから毎分約 8.5L で吸引し、同流量でマスクに通気させた。

③回収されたウイルス液を 10 倍階段希釈し、96 穴マイクロプレート上 MDCK 細胞に接種し、1 時間接触感染させた。ウイルス液除去後、ウイルス維持培地 1%BSA 含有イーグル MEM (Gibco) 0.1mL を加えて 37°C5%CO<sub>2</sub> 存在下で 96 時間培養し、24 時間毎に細胞変性効果 (CPE; Cytopathic effect) あるいは代謝阻害を観察し、ウイルス感染力価 (TCID<sub>50</sub>) を測定した。ウイルス感染力価低下率に関しては、次式より算出した。

ウイルス感染力価低下率 (%) =

$$\frac{(\text{各測定時のマスク通過前の回収ウイルス感染力価}) - (\text{各測定時のマスク通過後の回収ウイルス量})}{(\text{各測定時のマスク通過前の回収ウイルス感染力価})} \times 100$$

## 結果

### 3.1 インフルエンザウイルス A 型を指標とした不織布マスクの性能試験

アクリル製試験ボックスを利用した閉鎖空間における不織布マスクの性能試験をインフルエンザウイルス A 型を用いて行った。試験ボックス内に注入したインフルエンザウイルス A 型 ( $1.0 \times 10^{-6.30}$  TCID<sub>50</sub>/mL) に対し、試験ボックス内のマスク

通過前回収ウイルス感染力価は、マスク A 使用時において噴霧時間 10 分、20 分、30 分ごとにそれぞれ、6.17、6.13、6.17 (log) TCID<sub>50</sub>/mL であった (表 1)。マスク B 使用時では、噴霧時間 10 分、20 分、30 分ごとにそれぞれ、6.20、6.17、6.13 (log) TCID<sub>50</sub>/mL であった (表 1)。

投入ウイルス感染力価に対して試験ボックス内マスク通過前で回収したウイルス感染力価は、若干、減少していることが判明した。これ以降の実験に関しては減少した値を測定上の誤差とし、測定時におけるマスク通過前の回収ウイルス感染力価を噴霧ウイルス感染力価基準として以下の解析を行った。

a マスク A (INFLU-LIFESAVER) 使用時

不織布マスク A (INFLU-LIFESAVER) を使用した場合のマスク通過後の回収ウイルス感染力価は、噴霧時間 10 分、20 分、30 分ごとにそれぞれ、<1.00、<1.13、<1.85 TCID<sub>50</sub>/mL (log) TCID<sub>50</sub>/mL 以下であった (表 1)。

b マスク B (INFLU-LIFESAVER 3D) 使用時

不織布マスク B (INFLU-LIFESAVER 3D) を使用した場合のマスク通過後の回収ウイルス感染力価は、噴霧時間 10 分、20 分、30 分ごとにそれぞれ、<1.00、<1.00、<1.42 TCID<sub>50</sub>/mL (log) TCID<sub>50</sub>/mL 以下であった (表 1)。

## 考察

アクリル製試験ボックスを用いた閉鎖空間における浮遊インフルエンザウイルス A 型 (H1/N1;PR/8/34 株) を指標に不織布マスクの性能評価試験を実施した。本試験に使用した投入インフルエンザウイルス感染力価 6.30 (log) TCID<sub>50</sub>/mL に対して、試験ボックス内マスク通過前回収ウイルス感染力価は、実験に使用したマスクにより若干の違いがあるものの 6.13~6.20 (log) TCID<sub>50</sub>/mL であった (表 1)。投入ウイルス感染力価に対して試験ボックス内マスク通過前回収ウイルス感染力価が僅かに減少していることが判明した。このウイルス感染力価の減少は、噴霧装置からボックス内に到達する時点、または、回収過程における影響と考え、試験ボックス内マスク通過前回収ウイルス感染力価を実際にマスクを通過する予定ウイルス感染力価と考え、不織布マスクのウイルス除去性能について検討を行った。

マスクの形状および構造等の種類にかかわらず、本試験に使用した 2 種類の不織布マスクに関しては、噴霧時間 10 分間 (同時回収) マスク通過後の回収ウイルス感染力価がいずれも測定限界値 (1.00 (log) TCID<sub>50</sub>/mL 以下) を示し、インフルエンザウイルスに対し十分な性能を有することが判明した。

噴霧時間 20 分間 (同時回収) でも、2 種類のマスクにおいて測定限界値付近の感染力価を示したが、マスク A で <1.13 (log) TCID<sub>50</sub>/mL、マスク B で <1.13 (log)

TCID<sub>50</sub>/mL と差異が認められた (表 1)。

噴霧時間 30 分間 (同時回収) においても、99.99%以上の感染力価低下率を有していたが、マスク A で<1.85 (log) TCID<sub>50</sub>/mL マスク B で<1.42 (log) TCID<sub>50</sub>/mL と差異が認められた (表 1)。

今回の試験においては、2種類の不織布マスクいずれにおいても高い感染力価低下率 (99.99%以上) を示した。しかしながら、噴霧時間 (同時回収) が長くなるにつれて、感染力価低下率が悪くなる傾向が伺えた。感染力価低下率に影響が見られた原因としては、マスク全体が水分で満たされていたことによるものと推察され、長期間の使用には十分留意する必要があると思われる。

マスク毎の差異に関しては、マスク B、マスク A の順で高い感染力価低下率が認められ、本試験に関しては、マスク B 使用時が最も良好な結果を示した。

以上の結果より、本試験における不織布マスクの性能に関しては、マスク A およびマスク B いずれにおいてもほぼ同等のウィルス除去性能を有することが示唆された。今回の試験においては、ウィルス暴露時間最大 30 分の設定で行ったが、より長時間の暴露実験を行うことで各製品の性能の差異、あるいは使用可能限界時間等が明らかとなり、有用性が明確になると思われる。なお、本試験は、試験ボックスを利用していることおよびマスクを完全密着させた条件で試験を行っているため、実際にマスクを着用した状態では、試験結果が異なるものと推察される。

#### 参考文献

ウィルス実験学、総論、1973 (国立予防衛生研究所学友会編)

ウィルス実験学、各論、1973 (国立予防衛生研究所学友会編)

ウィルス実験プロトコール、1995 (メディカルビュー社)

Reed, L. J., Munch, H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. (1938) American Journal of Hygiene, 27:493.

試験期間 (ウィルス調製期間ならびに再現性試験を含む)

平成 21 年 10 月 20 日 ~ 平成 22 年 1 月 15 日

再試験期間 (ウィルス逆培養期間を含む)

平成 22 年 1 月 22 日 ~ 平成 22 年 3 月 19 日

試験報告書作成日 : 平成 22 年 3 月 23 日

試験報告書作成者 : 小林 憲忠

試験報告書承認日 : 平成 22 年 3 月 24 日

試験責任者 :

小林 憲忠 

表1 不織布マスクの浮遊ウイルスに対する性能試験

使用マスク	投入時ウイルス感染力価	噴霧・回収時間	試験ボックス内回収ウイルス感染力価				マスク通過後の回収ウイルス感染力価				感染力価低下率
			1	2	3	平均	1	2	3	平均	
マスクA	6.30	10分	6.20	6.10	6.20	6.17	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	>99.9993%
		20分	6.10	6.20	6.10	6.13	<1.20	<1.20	<1.00	<1.13	>99.9990%
		30分	6.20	6.20	6.10	6.17	<1.86	<1.86	<1.84	<1.85	>99.9952%
マスクB		10分	6.20	6.20	6.20	6.20	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	>99.9994%
		20分	6.10	6.20	6.20	6.17	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	>99.9993%
		30分	6.20	6.10	6.10	6.13	<1.44	<1.44	<1.40	<1.42	>99.9981%

感染力価の単位は(log)TCID<sub>50</sub>/mL

ウイルス感染力価低下率(%)=(各測定時のマスク通過前の平均回収ウイルス感染力価)-(各測定時のマスク通過後の平均回収ウイルス感染力価) x100  
 (各測定時のマスク通過前の平均回収ウイルス感染力価)