

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)
「新型コロナウイルス感染症対策に取り組む食品事業者における食品防御の推進のための研究」
分担研究報告書(令和4年度)

食品のデリバリーやテイクアウト用の容器等における 新型コロナウイルスのモデルウイルスを用いた生残性評価

研究分担者 渡辺 麻衣子 (国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部長)

研究要旨

フードデリバリーやテイクアウトに使用される食品の容器および包装には、運搬中に感染性ウイルスが付着する恐れがある。そこで本研究では、容器・包装表面に付着した新型コロナウイルスはどの程度の時間感染性を持つのかについて明らかにする目的で、新型コロナウイルスのモデルウイルスとしてウシコロナウイルスを用いて、実際の食品用容器・包装およびその素材片の計8種類へのウイルス接種・回収実験を行った。その結果、感染性ウイルス生残性は容器・包装の種類によって異なること、また、それらでのウイルス生残性減少の傾向は、大きくは生残性の高いプラスチック樹脂系統と、生残性の低い紙類系統に分類されるが、表面加工の程度や添加物の使用等の要因によって影響を受け、大きく変化することが示唆された。今後、容器・包装それぞれの化学的・物理的性状の情報を収集し考察することによって、残存性が低くなる要因を解明するため、検討を継続する必要がある。

協力研究者

工藤 由起子 (国立医薬品食品衛生研究所
衛生微生物部長)

岡部 信彦 (川崎市健康安全研究所)

接感染が疑われる事例も報告されている。

フードデリバリーやテイクアウトは、昨今のコロナ禍の外出自粛後に、多様に発展してきたサービス形態である。使用される食品の容器および包装には、運搬中に感染性ウイルスが付着する恐れがあり、これはどの程度の時間感染性を持つのか(ウイルスの生残性)は、消費者および新型コロナウイルス感染症対策に取り組む食品事業者にとって、重大な関心事となっている。過去には、主にプラスチック、金属、紙や木といった有機物質の素材片や、一部の生活用品試料片上に新型コロナウイルスを接種し、気温条件および経過時間による感染性ウイルスの残存性を検討した研究が複数実施されている。それらは、感染性ウイルスの保持時間は、プラスチック製樹脂表面上では比較的長く、金

A. 研究目的

新型コロナウイルス感染症の感染経路には、主にウイルスを含む飛沫・エアロゾルの吸入による飛沫感染や空気感染が知られるが、その他にウイルスを含む飛沫などが汚染した食品や生活用品に触れた手を介した非直接的な接触感染があると考えられている。新型コロナウイルスのRNAが患者周辺の生活環境表面からPCRによって検出された報告が複数あることから、生活環境表面でのウイルスの存在が示唆されている。さらに、実際に、飛沫や空気感染が否定できる環境において、環境表面を介した非直

属表面では比較的短いこと、材質の種類や室温によっては日単位で生存する可能性があることを示唆した。しかし食品の容器および包装を扱った検討はなされておらず、それらの表面上での感染性ウイルス生残性は不明である。

そこで本研究では、フードデリバリーやテイクアウトサービスにおける容器および包装の新型コロナウイルス感染拡大の影響を評価する目的で、食品のデリバリーやテイクアウト用の容器や包装等におけるウイルス生残性を評価した。実験の利便性を考慮し、新型コロナウイルスと最も近縁なウイルスの一種であるウシコロナウイルスをモデル系として用いて、実際の食品用容器および包装へのウイルス接種・回収実験を行った。令和3年度に実施した容器・包装の試料片に加えて、さらに種類を変えて検討を継続したので、その結果を報告する。

B. 研究方法

食品用容器および容器等の素材片へウイルス液を接種し、一定時間静置後に回収し、接種時・回収時の比較によって、素材ごとの感染力を持つウイルスの残存性を試験した。ウイルスの残存性は接種時および回収時のウイルス液中のウイルス力価を細胞への感染力を指標用いる TCID₅₀法により力価を測定し、添加前のウイルス力価と比較して感染能を持つウイルス残存性を算出した。本実験系の流れ図を図1に示した。この際には、実験での安全性・効率性を考慮し、BSL2 実験室で取り扱いが可能な実験用モデルウイルスとして、新型コロナウイルスと同属のベータコロナウイルス属に属するウシコロナウイルスを用いることとした。ウシ呼吸器症状由来の CS5 株を供試した。ウシコロナウイルス添加・回収試験は以下の手順で実施した。

(1) 使用したウイルスおよび細胞株とウイルス接種液の調整

ウシコロナウイルスの CS5 株の培養にはヒト

結腸癌由来細胞株 HRT-18G を用いた。ウシコロナウイルスは培養後、シヨ糖密度勾配法での超遠心で濃縮・精製し、これを、FBS 等を添加しない Dulbecco's Modified Eagle's Medium high glucose (DMEM-high glucose, gibco) で 10 倍に希釈し、ウイルス接種液とした。

(2) 使用する試料片

食品のデリバリーで使用される容器包装に関する情報を収集し、包装製品の素材による分類を行い、供試する包装製品の選定を行った。選定には、令和3年度の結果からのウイルス生残性に関する考察を深めるため、令和3年度においてウイルス生残性に特徴を示した製品の素材となったプラスチック材料片や、同様のプラスチック材料片を使用した類似の製品も採用することとした。また、紙類では、資材の表と裏面で異なる表面加工が施された製品も多数流通しており、それらの加工の違いがウイルス生残性に影響を及ぼすのかを検討するため、両面を試験した。令和4年度は、以上に着目した試験を行うこととして、以下の8種類を供試した（括弧内は素材の種類または表面加工、表1）；令和3年度に試験した野菜用包装袋およびプラスチック BOX の対照としてポリプロピレン素材片（表面加工無し）およびポリプロピレン素材片（表面加工サンドブラスト）、令和3年度に試験した高透明ポリスチレン（GPPS）を原料とした発泡スチレンボックスの対照として GPPS 素材片（ポリスチレン・表面加工無し）および HIPS 素材片（耐衝撃性ポリスチレン・表面加工無し）、令和3年度に試験した食品用耐油耐水紙（片側のみ耐油耐水加工の加工無し面）の再試験、およびその対照としてこれと同一製品の食品用耐油耐水紙（片側のみ耐油耐水加工の加工有り面）、さらにこの食品用紙の対照として未晒クラフト紙（ポリエチレンコーティング有り面）およびこれと同一製品の未晒ク

ラフト紙（ポリエチレンコーティング無し面）を供試した。流通する包装製品を購入し、試料片の切片を作製して、エチレンオキサイドガス滅菌した。

(3) 試料片へのウイルス添加回収実験の手順

以下の手順の実験を、1種類の試料について繰り返し3回行った。

①滅菌ガラスシャーレ中に、食品用耐油耐水紙では1 cm四方に切った試料片を3枚、それ以外の5種類では5 cm四方に切った試料片1枚を置いた。試料片上に6~12スポットに分けた合計60 µlのウイルス液を滴下し、安全キャビネット内でシャーレのフタを開け、約60分間、乾くまで静置した。

②恒温恒湿インキュベーター内に、ガラスシャーレに入れて決められた時間静置した。

③ウイルススポット部位に1% FBS/D-MEMを300 µl滴下し、1分間ピペティングで混合した後チューブに全量回収する。これを2回繰り返し、合計600µlの回収液を得た。この際に使用するD-MEMは、パンクレアチン2.5 µg/ml含有1% FBS/D-MEM-high glucoseを用いた。

④ウイルス添加後の静置の条件検討として、静置時の気温および相対湿度は、気温が高いほどウイルス残存性は低下する、湿度は比較的影響が少ないことが過去の研究からすでに示されていたため、今回は気温25℃、湿度70%（気象庁発表の2018年および2019年東京における年平均外気湿度、Japan Meteorological Agency、<https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>）に固定した。この温湿度条件に設定した恒温恒湿インキュベーター内に、ガラスシャーレに入れて静置した。0（ウイルス添加後1時間の乾燥直後）、6、18、30、48時間後でそれぞれ回収した。

⑤試料片からのウイルス回収液のウイルス力価測定は、回収に用いたD-MEMを使用して回収

液を10倍段階希釈した後、細胞単層シートが形成されている96 well 平底プレートに接種し、TCID50 アッセイによる力価測定を行った。96 well 平底plateのwell底で単層シートを形成したHRT-18Gにウイルス液を接種し、6 over nightの培養後、CPE判定を行った。継時的に採取したウイルス回収液の力価を比較し、減少度を評価した。ウイルス力価の定量下限値は $1.0 \log_{10}\text{-TCID}_{50}/\text{mL}$ とした。

（倫理面への配慮）

本研究において、特定の研究対象者は存在せず、倫理面への配慮には該当しない。

C. 研究結果

新型コロナウイルスのモデルウイルスとしてウシコロナウイルスを使用した実験系を用いて、8種類の食品用容器・包装で作製した試料片にウシコロナウイルスを接種して、感染性ウイルスの生残性を経時的に確認した。図2に、回収液中のウイルス力価の漸減の様子をグラフとして示した。ここでは、ウイルス力価の実験値は繰り返し実験における平均値および標準偏差で示し、さらに経時的に採取したウイルス力価測定値の漸減の近似直線を示した。ウイルス力価の定量下限値は $1.0 \log_{10}\text{-TCID}_{50}/\text{mL}$ とした。

その結果、今年度供試した8種類の試料片は、定量下限値以下となる時間に着目して分類すると、ポリエチレンコーティング（PE加工）した未晒クラフト紙を含むプラスチック樹脂の系統と、紙類の系統に分類され、それぞれ定量下限値以下に達する時間は、29.0~46.9時間または3.4~8.6時間であった。さらに、0（ウイルス接種後1時間の乾燥直後）、6、18、30、48時間後での試料片上から検出されたウイルス力価の平均値の近似直線、すなわち感染性ウイルス生残性の減少の傾向

に着目して分類すると、「0 時間目での減少量少なく、その後緩やかに減少」（ポリプロピレン素材片/表面加工無し、ポリプロピレン素材片/表面サンドブラスト加工、HIPS/表面加工無し、GPPS/表面加工無し、食品ボックス用耐油紙/表面加工有り、未晒クラフト紙/PE 加工有り）、「0 時間目での減少量少なく、その後急速に減少」（食品ボックス用耐油紙/表面加工有り面）、および「0 時間目で急速に減少、その後緩やかに減少」（食品ボックス用耐油紙/表面加工無し、未晒クラフト紙/PE 加工無し）の 3 タイプに分類されることが示された（表 1）。ここに、令和 3 年度の試験結果から、「0 時間目での減少量少なく、その後急速に減少」のタイプと分類した野菜用包装袋、および接種・乾燥後 0 時間目のみでしか検出できず「6 時間目以下で非検出」のタイプと分類した発泡スチレンボックスを加えると（表 1）、これまでに供試した容器・包装は 4 タイプの感染性ウイルス生残性の減少傾向を示すこと、および 2 年間で供試した試料片で最も速やかに感染性ウイルスが減少したのは発泡スチレンボックスであることが確認された。

D. 考察

令和 3 年度の結果と同様に、感染性ウイルス生残性は食品用容器・包装の種類によって異なることが示された。

令和 3 年度の結果から、野菜用包装袋は同じポリプロピレン製の耐熱性食品用ボックス蓋と比較してウイルス生残性が低かったことから、今年度はポリプロピレン素材片（表面加工無し）を対照として試験した。これらの製品からの結果を比較したところ（表 1、図 2）、ポリプロピレン素材片（表面加工無し）はポリプロピレン製耐熱性食品用ボックス蓋と同程度のウイルス生残性を示

した。したがって、ポリプロピレンは本来ウイルス生残性を保持しやすい素材であるが、野菜用包装袋は成型のための加工工程における表面加工または添加物等の影響によって、ウイルス生残性が低下した可能性が考えられた。

また、ポリプロピレン素材片の表面加工無しと表面サンドブラスト加工を比較した（表 1、図 2）。その結果、感染性ウイルスの定量下限値となる時間の長さはサンドブラスト加工の試料片は表面加工無し試料片よりも大きく減少したことから、同一の素材であっても表面粗さによってウイルス生残性は影響を受けることが示唆された。

令和 3 年度の結果から、食品ボックス用耐油耐水紙（片側のみ耐油耐水加工の加工無し面）はプラスチック類製品よりもウイルス生残性が低かったことから、今年度、対照としてこれと同一製品の食品用耐油耐水紙（片側のみ耐油耐水加工の加工有り面）を試験した。また、同じ紙類からさらに製品を剪定し、未晒クラフト紙の表面 PE 加工加工有り面および加工無し面も試験した。これらの製品からの結果を比較したところ（表 1、図 2）、今回供試した紙類 4 種類の中でも、未晒クラフト紙の表面 PE 加工有り面のみがプラスチック樹脂系統の試験片と同等の感染性ウイルス定量下限値以下となるまでの時間の長さ、また「0 時間目での減少量少なく、その後緩やかに減少」というウイルス生残性の変化のタイプを示した。このことから、ウイルス生残性には、試料の素材種類だけでなく、表面加工の影響は大きいことが示唆された。このことは、食品ボックス用耐油耐水紙および未晒クラフト紙での表面加工有り・無し面をそれぞれ比較した違いからも確認された（表 1、図 2）。

令和 3 年度の結果から、発泡スチレンボックスの表面では、他の容器・包装表面と比較して著し

くウイルス生残性が低かった（表 1）。今年度に実施した高透明ポリスチレン（GPPS）素材片の結果から、生残性の低さは発泡スチレンの素材となった GPPS の影響ではなく、発泡化といった成型時の加工の影響によるものであることが示唆された。その具体的な要因に関する仮説として、ウイルスが試料表面で感染能を保持していたとしても試料片上で粒子が捕捉され液中に回収されず検出されなかったか、またはウイルス粒子は回収されていたとしても、発泡加工した際の発泡剤等添加物によって化学的にウイルスが失活し感染性を失ったなどが考えられ、これについては今後検討を進める必要がある。

以上のことから、感染性コロナウイルスの生残性は、大きくは生残性の高いプラスチック樹脂系統と、生残性の低い紙類系統に分類されるが、表面加工の程度、成形時の加工、添加物の使用等の要因に左右され、変化する可能性があることが明らかとなった。今後、それぞれの製品の添加物や溶出する含有物質、表面の立体構造等、化学的・物理的性状の情報を収集し考察することによって、残存性が低くなる要因を解明できる可能性があり、検討を継続する予定である。

本研究結果は、あくまでも、ウシコロナウイルスにおいて、容器表面上で細胞に対して感染性を保持している時間の経過であり、実際のヒトへの感染性を示すものではない。しかしいずれにせよ新型コロナウイルスの代替として用いたウシコロナウイルスが一定時間経過後でも表面上に感染性を保持する形で残っていることが示されたことは、食品およびそれに関連する物品を取り扱うものにとっては、手洗い・手指衛生を十分に行うなどの取り扱い時の注意が必要であることが、改めて示唆されたことになる。今後は、新型コロナウイルスでの動物やヒトへの実際の感染性と

つながる、容器表面上でのウイルス生残性についてのエビデンスの蓄積が必要である。

E. 結論

食品の容器・包装上の感染性ウイルス生残性は容器・包装の種類によって異なること、また、それらでのウイルス生残性減少の傾向は、大きくは生残性の高いプラスチック樹脂系統と、生残性の低い紙類系統に分類されるが、発泡スチレンや、表面をサンドブラスト加工したポリスチレン、表面をポリスチレンコーティングした未晒クラフト紙の例の通り、表面加工の程度や添加物の使用等の要因によって影響を受け、大きく変化することが示唆された。今後、容器・包装それぞれの化学的・物理的性状の情報を収集し考察することによって、残存性が低くなる要因を解明するため、検討を継続する必要がある。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

無し

2. 学会発表

無し

H. 知的財産権の出願・登録状況

無し

表 1. ウシコロナウイルスにおける食品の容器・包装試験片表面上で細胞に対して感染性を保持する時間
およびウイルス減少傾向の比較

試験 年度	素材種類	製品名	感染性ウイルス減少 の近似直線	定量下限値 以下となる 時間 (h)	感染性ウイルス生残性 の変化のタイプ
R3		野菜用包装袋	$y = -0.125x + 3.344$	18.7	A. 0時間目での減少量少なく、その後急速に減少
R3	ポリプロピレン	耐熱食品用ボックス蓋	$y = -0.065x + 3.346$	36.4	B. 0時間目での減少量少なく、その後緩やかに減少
R4		素材片(表面加工無し)	$y = -0.059x + 3.748$	46.9	B. 0時間目での減少量少なく、その後緩やかに減少
R4		素材片(表面サンドブラスト)	$y = -0.093x + 3.699$	29.0	B. 0時間目での減少量少なく、その後緩やかに減少
R3		発泡スチレンボックス(GPPS)	Not applicable	0.0	C. 6時間目以下で非検出
R4	ポリスチレン	ポリスチレン(HIPS)	$y = -0.062x + 3.403$	38.9	B. 0時間目での減少量少なく、その後緩やかに減少
R4		ポリスチレン(GPPS)	$y = -0.057x + 3.545$	45.0	B. 0時間目での減少量少なく、その後緩やかに減少
R4	耐油紙	食品ボックス用耐油紙(表面加工無し面)	$y = -0.058x + 1.978$	3.4	D. 0時間目で急速に減少、その後緩やかに減少
R4		食品ボックス用耐油紙(表面加工有り面)	$y = -0.194x + 2.667$	8.6	A. 0時間目での減少量少なく、その後急速に減少
R4	未晒クラフト紙	未晒クラフト紙(ポリエチレンコーティング無し)	$y = -0.017x + 1.108$	6.2	D. 0時間目で急速に減少、その後緩やかに減少
R4		未晒クラフト紙(ポリエチレンコーティング有り)	$y = -0.049x + 2.563$	32.0	B. 0時間目での減少量少なく、その後緩やかに減少

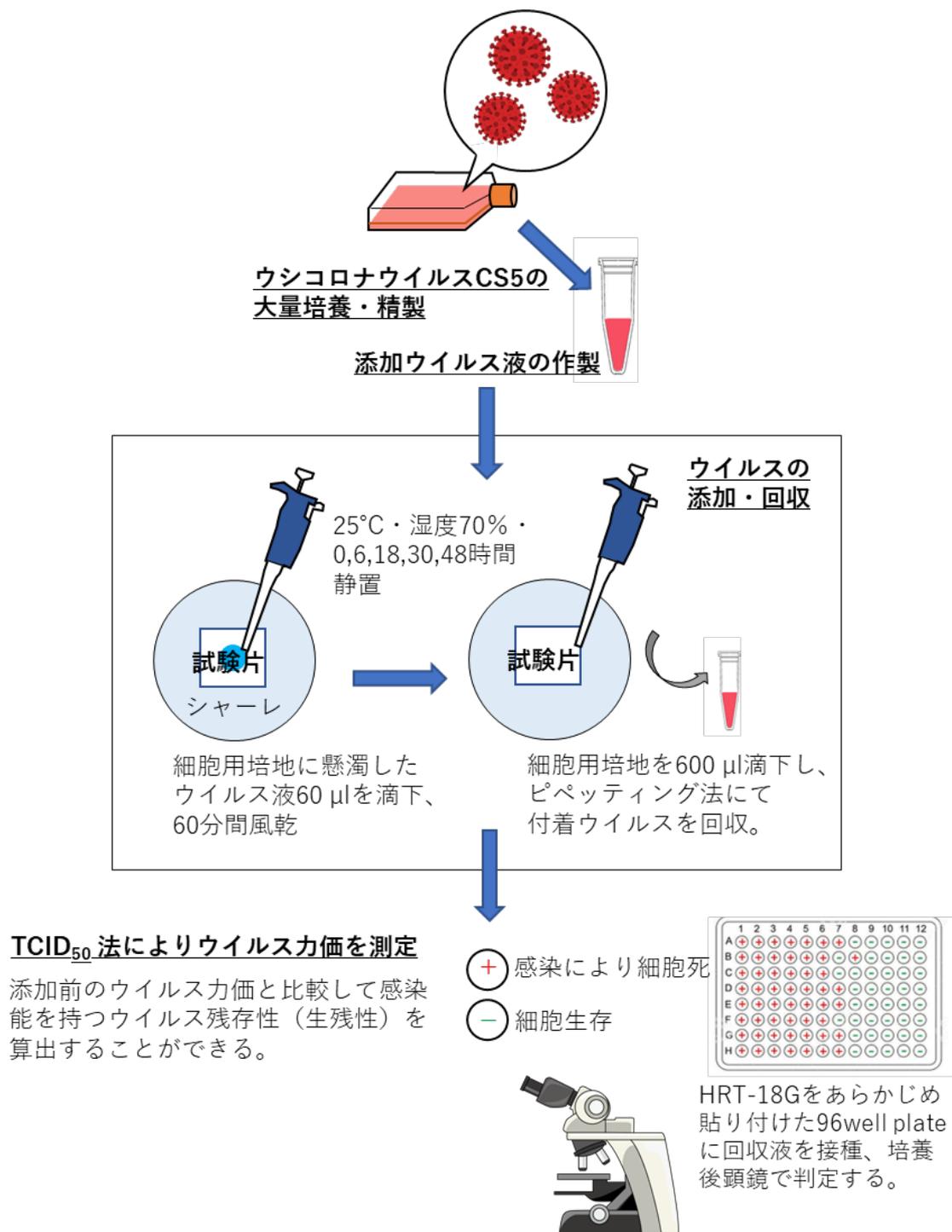
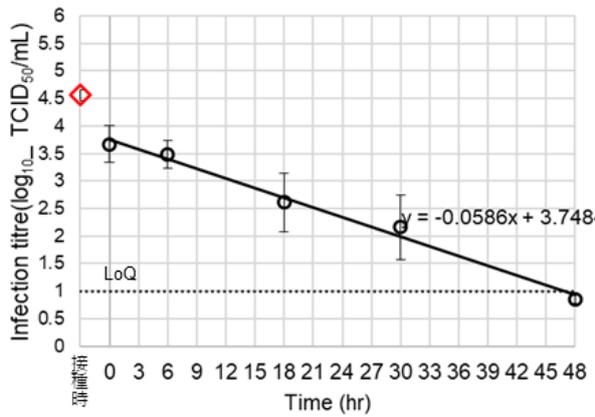
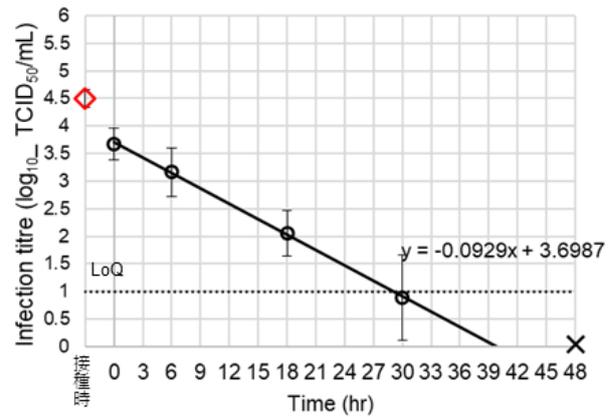


図 2. 試料片へのウシコロナウイルス添加回収試験の方法の流れ図

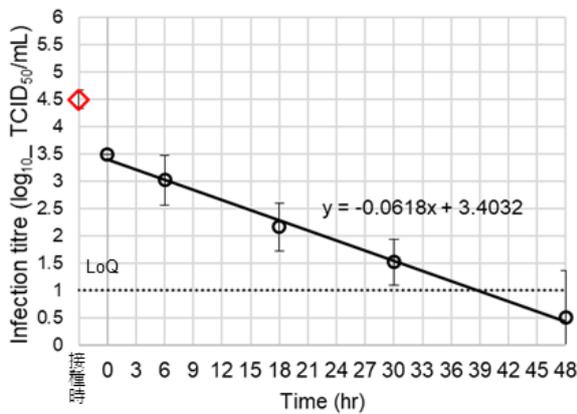
a. ポリプロピレン(ノーマル)



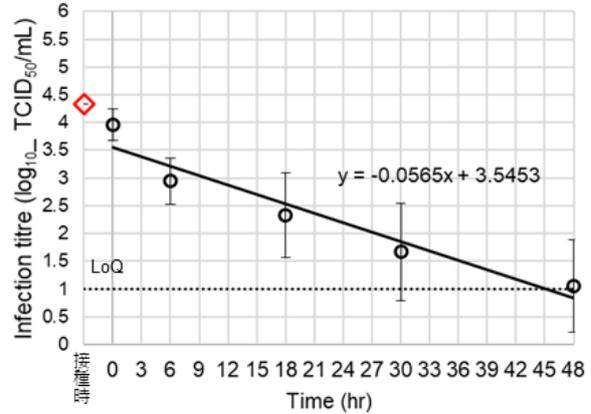
b. ポリプロピレン(サンドブラスト)



c. ポリスチレン(HIPS)



d. ポリスチレン (GPPS)



e. 発泡スチレンボックス

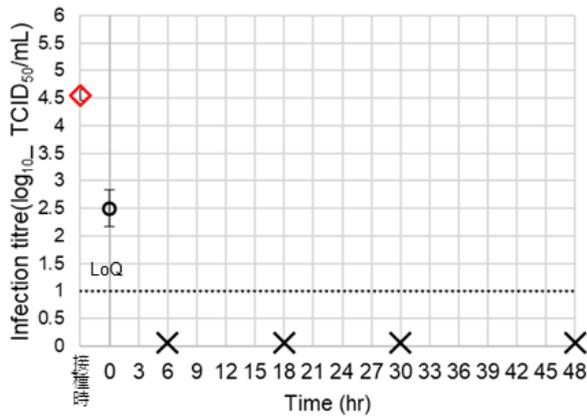
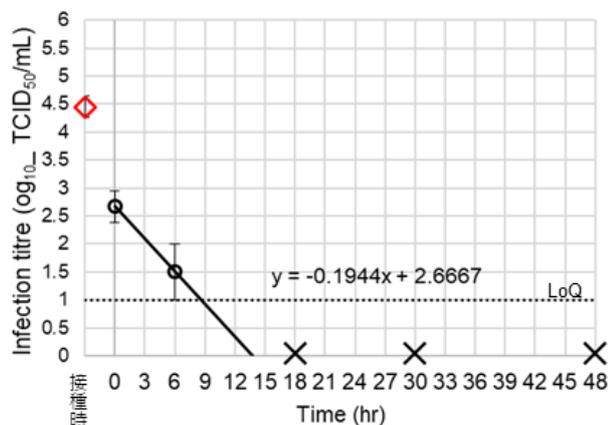


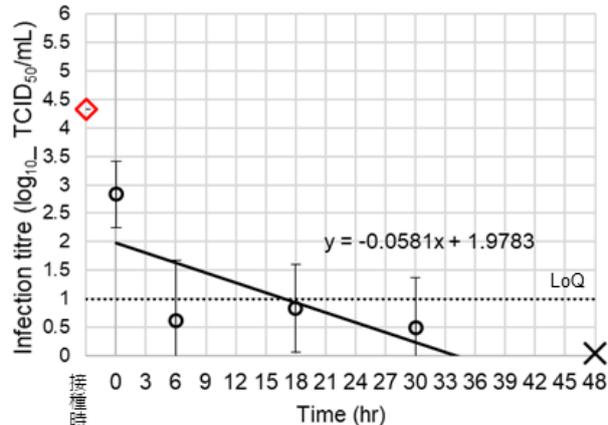
図 2-1. 細胞に対して感染性を有するウシコロナウイルス残存性の試料片上での経時的変化

ウシコロナウイルスにおいて、容器表面上で細胞に対して感染性を保持している時間の経過を示した。1種類の試料について繰り返し3回行った。本測定系でのウイルス力価の定量限界値 $1.0 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$ とした。グラフ上での各マーカーが表す内容は以下の通り；赤い四角マーカーは試験片へのウイルス接種液におけるウイルス力価の平均値および標準偏差、黒丸マーカーは0、6、18、30、48時間目のウイルス回収液におけるウイルス力価の平均値および標準偏差、バツ印マーカーは3回の試験ともに感染性ウイルス検出は定量下限値以下 ($< \text{LoQ}$) の検出であったことを示した。破線は本測定系での LoQ 、直線は経時的に採取したウイルス回収液におけるウイルス力価測定値の近似直線をそれぞれ示した。e. 発泡スチレンボックスの結果は令和3年度の研究成果からの引用であるが、ウイルス力価の測定値は接種・乾燥後0時間目のみでしか検出できなかったため、近似曲線は描けなかった。

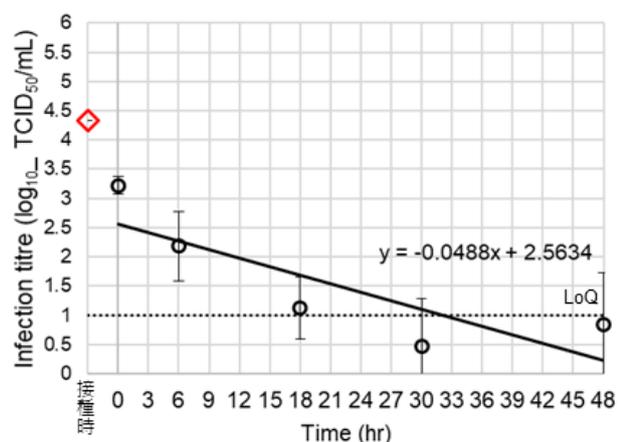
f. 食品ボックス用耐油耐水紙（表面加工有）



g. 食品ボックス用耐油耐水紙（表面加工無）



h. 未晒クラフト紙（PE加工有）



i. 未晒クラフト紙（PE加工無）

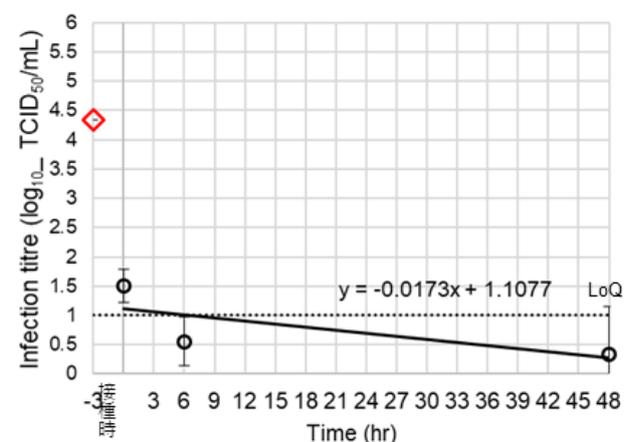


図 2-2. 細胞に対して感染性を有するウシコロナウイルス残存性の試料片上での経時的変化

ウシコロナウイルスにおいて、容器表面上で細胞に対して感染性を保持している時間の経過を示した。1種類の試料について繰り返し3回行った。本測定系でのウイルス力価の定量限界値 $1.0 \log_{10}\text{-TCID}_{50}/\text{mL}$ とした。グラフ上での各マーカーが表す内容は以下の通り；赤い四角マーカーは試験片へのウイルス接種液におけるウイルス力価の平均値および標準偏差、黒丸マーカーは0、6、18、30、48時間目のウイルス回収液におけるウイルス力価の平均値および標準偏差、バツ印マーカーは3回の試験ともに感染性ウイルス検出は定量下限値以下 ($< \text{LoQ}$) の検出であったことを示した。破線は本測定系での LoQ 、直線は経時的に採取したウイルス回収液におけるウイルス力価測定値の近似直線をそれぞれ示した。