

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5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ィ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 衛生微生物部第3室長)

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、運搬中に感染性ウィ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の感染性を有する時間の程度(ウィルスの生残性)について明らかにする目的で、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ィルス生残性の評価、および試料毎に異なる生残性を示した場合の生残性に関わる素材に関連した要因の検討を行った。新型コロナウイルスのモデルウィルスとしてウシコロナウィルスを用いて、試料含有添加物の溶出実験と溶出液存在下でのウィルス感染力価測定実験を行った。その結果、試料表面の溶出液下でのウィルス生残性から、紙類の添加物がプラスチック樹脂と比較してウィルス生残性を低下させる傾向にあることが確認され、食品用容器包装の添加物や素材原料の溶出は、表面に付着した感染性ウィルスの生残性に対して影響を及ぼすことが示唆された。本研究の結果から、素材の種類や環境条件によっては表面上でウィルスは生残性がある程度保つ可能性があることから、食品関連事業者にとって、通常の商品衛生管理で必要とされているレベルでの手洗い・手指衛生を十分に行う必要があることを改めて確認した。

協力研究者

西角 光平(国立医薬品食品衛生研究所
衛生微生物部研究員)

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)

るエアロゾル感染・飛沫感染と、感染性ウィルスを含む飛沫が生活環境表面に付着しそれを触れた手指等を介して感染が成立する接触感染である。放出された新型コロナウイルスの感染性を有する時間の程度(ウィルスの生残性)は、流行初期株ではエアロゾル中で約3時間、プラスチック表面では72時間生残であり、オミクロン株においてはプラスチック表面で約8日も生残することが確認されており、環境表面での高い環境安定性を有することがわかる。実際に、飛沫感染やエアロゾル感染が否定できる環境において、生活環境表面を介した接触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

A. 研究目的

新型コロナウイルス感染症は、感染者の咳やくしゃみによって口や鼻から放出される感染性ウィルスを含む粒子が、非感染者に暴露されることで感染する。主要な感染経路としては、感染者から空気中に放出された感染性ウィルスを含むエアロゾルおよび飛沫により感染す

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、運搬中に感染性ウィルスが付着する恐れがあり、容器・包装表面でのウィルスの生残性は、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ィルスの残存性を検討した研究が複数実施されている。それらの研究では、感染性ウィルスの保持時間は、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残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ィ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ィルス生残性の評価、および試料毎に異なる生残性を示した場合の生残性に関わる素材に関連した要因の検討を行った。本研究班では、これまで、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って、供試する包装製品を選定した。選定した製品試料を用いてウィルス添加回収実験を行い、それらでのウィ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ことが示された。そこで令和5年度では、ウィルス生残性に関与する表面性状を検討するために、試料含有添加物の溶出実験と溶出液存在下でのウィルス感染力価測定実験を実施したので、その結果を報告する。

B. 研究方法

食品用容器・包装の試料片から添加物を溶出し、その溶出液存在下で培養細胞にウシコロナウィルスを感染させ、ウィルス感染力価を測定した。試料片の添加物溶出は、食品用器具及び容器包装に関する食品健康影響評価指針別紙2（食品安全委員会、2019年）を参考にした。ウィルスの生残性は、ウィルスを感染させた培養細胞の細胞変性の割合でウィルス感染力価を算出するTCID₅₀（Tissue culture infectious dose 50%, 50%組織培養細胞感染量）法にて算出し、未溶出液と比較して評価した。各容器・包装からの結果を比較し、ウィルスが生残しにくい容器の条件を検討した。本実験系の流れ図を図1に示した。なお、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ィルスとして、新型コロナウイルスと同属のベータコロナウィルス属に属するウシコロナウィルスを用いることとした。使用するウシコロナウィルス株は、ウシ呼吸器症状由来のCS5株を供試し、培養細胞株はヒト結腸癌由来細胞株（HRT-18G）を用いた。試料片添加物溶出実験とウシコロナウィルス感染力価測定試験は以下の手順で実施した。

(1) 食品容器・包装の試料片

本研究班でこれまでに実験に用い、ウィルス生残性を明らかにした試料を供試した（括弧内は素材の種類または表面加工）；高衝撃性ポリスチレン（GPPS、表面加工無し）、高透明ポリスチレン（HIPS、表面加工無し）、発泡スチレン、ポリプロピレン素材（表面サンドブラスト加工有りおよび無し）、野菜包装用袋および耐熱食品容器フタ、食品用耐油耐水紙（耐油耐水加工の加工面と加工無し面）および未晒クラフト紙（ポリエチレンコーティング加工面と加工無し面）、以上の3素材11試料を供試した（表1）。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。

(2) 試料片含有添加物の溶出実験の手順

今回添加物を溶出させる液体は、後にウィルス感染力価を測定するための細胞培養液として用いるため、食品用器具及び容器包装に関する食品健康影響評価指針別紙 2（食品安全委員会、2019 年）を一部改変し、Dulbecco's Modified Eagle's Medium high glucose (DMEM, gibco) を選択した。

①ホウケイ酸ガラス製のフラスコに試料片を入れ、DMEM を試料片接触面積 1cm² あたり 2mL の割合で満たした。

②溶出条件は、室温および体温での使用を想定し、試験区として 25℃・1 時間、37℃・1 時間にそれぞれ設定した。繰り返し試験数としては、1 試料につき 3 回溶出実験を行った。予備試験区として 25℃ 10 分の条件を設定し、1 試料につき 1 回溶出実験を行った。試料片に DMEM を満たしたフラスコをウォーターバスに設置し、試験条件に従って静置させた。

③インキュベート後に直ちにフラスコ内の DMEM をガラス製のサンプル瓶に回収し、試料片添加物溶出液として、ウィルス感染力価測定実験に用いた。

(3) 試料片添加物溶出液下でのウシコロナウィルス感染力価測定実験の手順

①試料片添加物溶出液をパンクレアチン 2.5 µg/ml 含有 1% FBS+1% Antibiotic-Antimycotic (gibco) に調整し、細胞培養用培地とした。

②当実験室で濃縮・精製したウシコロナウィルス CS5 株 (5.5 log₁₀ TCID₅₀/ml) を①で調整した試料片添加物溶出液で 10 倍希釈し、希釈系列を 10⁻⁸ 系列まで作製した。

③ウシコロナウィルスの培養にはヒト結腸癌由来細胞株 HRT-18G を用いた。HRT-18G を単層培養させた 96well 平底プレートに、②で作製したウィルス添加溶出液を接種し、37℃、5%CO₂ 存在下で HRT-18G にウィルスを吸着させた。陰

性対照として、溶出実験に用いていない DMEM を用いた。

④培養 6 日後に顕微鏡下での細胞変性効果 (CPE) の有無を確認し、Reed-Muench 法によりウィルス感染力価を算出した。

⑤陰性対照のウィルス感染力価の対数値 (N₀) と試験区条件における溶出液のウィルス感染力価の対数値 N₀ から対数減少値 (N₀-N) を算出し、ウィルス感染力価の減少幅を評価した。さらに、陰性対照に対する試験区の減少率 (%) を算出し、溶出した添加物におけるウィルス生残性の影響を確認した。なお、本試験において減少率は以下の式で算出した。

(1 - 試験区のウィルス感染力価/陰性対照区のウィルス感染力価) × 100 (%)

(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ィルスとしてウシコロナウィルスを使用した実験系を用いて、食品用容器・包装 11 試料の溶出実験とそれらからの溶出液下でのウシコロナウィルス感染力価測定を実施し、試料中の添加物によるウィルス生残性への影響を調べた。図 2 に、溶出液中のウィルス生残性（ウィルス感染力価）測定結果を示した。ここでは、ウィルス感染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誤差で示し、素材ごとに 3 試験区の結果を併記した。また陰性対照（溶出実験に用いていない DMEM）をウィルスに作用させて得られたウィルス感染力価 (5.5 log₁₀ TCID₅₀/ml) を図中に破線で示した。

表 2 に、陰性対照に対する試験区のウィルス感染力価の対数減少値および減少率を示した。溶出条件別に結果を比較したところ、試験区である

25℃（室温）と 37℃（体温）での 1 時間溶出条件下において、11 試料中 10 試料で感染力価の低下がみられ、いずれも添加物の溶出とウィルス生残性への影響が認められた。なお予備試験区として設定した 25℃・10 分での条件下では、ウィルス力価減少値は変化無し、または小減に留まった（図 2）。

試験区別での結果では、表 2 での 25℃・1 時間の溶出条件下における結果では、発泡スチレンの溶出液でウィルス感染力価が陰性対照と比較して 90.0%減少し、11 試料の中で最大の減少率を示した。次に減少率が大きい素材は耐油耐水紙（加工有り面）の溶出液であり、87.4%の減少を示した。ウィルス感染力価の減少率が 50%以上の溶出液は、上述の 2 試料に続いてポリプロピレン素材（表面サンドブラスト加工有り面）、GPPS、未晒クラフト紙（表面加工無し面）、HIPS および未晒クラフト紙（表面加工有り面）の溶出液であり、それぞれ 80.0%、74.9%、74.9%、68.4%および 60.2%の減少率を示した。これに対して、ポリプロピレン素材（表面加工無し面）、野菜包装用袋および耐油耐水紙（表面加工無し面）の溶出液では 50%以下の減少率であり、それぞれ 49.9%、20.6%、20.6%だった。耐熱性食品容器フタの溶出液においてはウィルス感染力価の減少が認められなかった。

表 2 での 37℃・1 時間の溶出条件下における結果では、発泡スチレンの溶出液でウィルス感染力価が陰性対照と比較して 87.4%減少し、11 試料の中で最大の減少率を示した。これに次いでウィルス感染力価の減少率が大きかったのは紙類 4 試料の溶出液であり、耐油耐水紙（加工無し面）の溶出液で 84.2%、耐油耐水紙（加工有り面）および未晒クラフト紙 2 試料（表面加工有り面/無し面）の溶出液でいずれも 80%以上の減少率を示し

た。プラスチック樹脂の溶出液はいずれも紙類のものより低い減少率を示し、GPPS、HIPS、ポリプロピレン素材（表面加工無し面）、ポリプロピレン素材（表面サンドブラスト加工有り面）および野菜包装用袋の溶出液でそれぞれ 74.9%、74.9%、68.4%、60.2%および 20.6%の減少率を示した。耐熱性食品容器フタの溶出液では、本溶出条件下においてもウィルス感染力価の減少が認められなかった。

D. 考察

本年度の検討では、試料含有添加物の溶出実験と溶出液存在下でのウィルス感染力価測定実験を実施し、ウィルス生残性に関与する表面特性を評価した。その結果、試料含有添加物存在下の 25℃・1 時間および 37℃・1 時間の両試験区で最もウィルス感染力価の減少率が大きかったのが発泡スチレンの溶出液であった。この要因として、発泡スチレンの原料であるスチレンモノマー自体の溶出物がウィルス生残性に影響した可能性が考えられる。スチレンはヒト、水棲生物および実験動物において毒性を示す報告があり、またウィルスをはじめとする微生物に対して実験動物への感染性低下作用が認められている。しかし、原料のスチレンに関しては GPPS および HIPS でも同様に用いられているため、発泡スチレン加工時にのみみられる発泡過程にもウィルス生残性を低下させる可能性がある。その要因に関する仮説として、まず発泡による発泡スチレンの表面積の拡大が考えられる。発泡加工により試料表面に凹凸が形成されることから、溶出液に接触する面積が増大することで GPPS および HIPS よりもスチレン溶出量が増加したことが推察される。また、発泡剤等添加物によって化学的にウィルスが失活し感染性を失ったなどが考えられる。発泡スチレ

ンは、令和4年度に実施した試料片表面にウィルスを接種しての生残性確認実験においても最もウィルス生残性が低下していた試料であったことから、表面上の複数の物理化学性状がウィルス生残性に関与する可能性があり、今後、溶出液中での発泡スチレン特異的検出成分の分析や、表面の物理性状の測定といった分析を行い、ウィルスの生残性に影響する要因の特定をさらに進める必要がある。

37℃・1時間の溶出液下でのウィルス生残性から、紙類の添加物がプラスチック樹脂と比較してウィルス生残性を低下させる傾向にあることが示された。37℃・1時間溶出条件下では紙類4試料の溶出液でいずれも80%以上の減少率を示した（表2）ことから、体温（37℃）での溶出によって紙自体に含まれる成分が比較的多量に溶出し、ウィルス生残性に強く影響を及ぼした可能性がある。その候補として考えられる紙含有成分としては、抗ウィルス活性成分を含有するとされているセルロースおよびパルプ繊維などの天然由来成分のほか、加工時に使用されるロジン（マツヤニ）などが挙げられる。さらに、食品用耐油耐水紙からの溶出液実験の結果から、表面加工の有無の間でウィルス生残性に違いが認められた。25℃・1時間の条件下で、耐油耐水加工面の溶出液では84.2%のウィルス感染力価の減少率を示したが、耐油耐水加工無し面の溶出液では20%の減少率に留まった（表2）ことから、耐油耐水加工由来成分による影響が示唆された。紙類では紙自体の成分と加工添加物の両方にウィルス生残性を低下させる成分があると考えられる。一方、プラスチック樹脂はウィルス生残性が認められなかった耐熱性食品容器フタや減少率20%の野菜包装用袋を筆頭に、全体的に紙類と比較してウィルス感染力価の減少の程度が少ない傾向にあ

ったことから、プラスチック樹脂は発泡スチレンを除いて添加物の溶出が少ない、または添加物が溶出してもウィルス生残性への関与が少ないことが示唆された。今回供試したポリエチレンコーティングした未晒クラフト紙は、未加工の未晒クラフト紙よりもウィルス生残性が高かったという結果（表2、図2）も、このことと一致した。先行研究から、プラスチック樹脂表面上のウィルスは安定的に生残性を保つ傾向があることが知られており、本研究の結果はプラスチック樹脂のこれらの性質と関連性があると考えられた。また、プラスチック樹脂の中でも、耐熱性食品容器フタは最もウィルス感染性が低下しない傾向を示した。これらは現代において食品の容器包装として広く普及している製品であることから、使用の際には衛生的な管理により一層留意する必要があると考えられた。

今年度の検討の結果から、食品用容器包装の添加物や素材原料の溶出は、表面に付着した感染性ウィルスの生残性に対して影響を及ぼすこと、またその影響の程度は大きくはプラスチック樹脂と紙類に分類され、さらに成形時の加工や表面加工の程度等にも影響され変化する可能性があることが示唆された。本研究班のこれまでの検討結果から、容器包装試料は、表面付着ウィルス生残性がより高い素材（プラスチック樹脂を含む）と、より低い素材（紙類を含む）に分類されることがすでに明らかにされており、今年度の結果は、その試料による生残性の違いを生じさせた要因の一つは添加物の使用や素材原料の特性等がもたらしたものであったことを明白に示した。

一方で、本研究結果は、ウシコロナウィルスをモデルとした培養細胞によるウィルス感染性の評価であり、実際のヒトへの新型コロナウイルス感染性を示すものではない。しかしながら、モデ

ルウイルスにおいては長時間感染性が保持されることが示されたことから、食品関連事業者にとって、通常の食品衛生管理で必要とされているレベルでの手洗い・手指衛生を十分に行う必要があることを改めて確認した。

E. 結論

ウシコロナウイルスをモデルウイルスとして、食品容器包装の添加物溶出液を用いたウイルス力価を測定することによって、容器包装表面のウイルス生残性に影響を及ぼす要因について検討した。その結果、食品用容器包装の添加物や素材原料の溶出は、表面に付着した感染性ウイルスの生残性に対して影響を及ぼすこと、またその影響の程度は、大きくはプラスチック樹脂と紙類に分類され、さらに成形時の加工や表面加工の程度等にも影響され、変化する可能性があることが示唆された。本研究の結果から、添加物の使用等による表面上の化学性状によるウイルス生残性への影響を考察することができ、物理性状の知見も含めた多角的な評価への発展が期待できる。素材の種類や環境条件によっては表面上でウイルスは生残性をある程度保つ可能性があることから、食品関連事業者にとって、通常の食品衛生管理で必要とされているレベルでの手洗い・手指衛生を十分に行う必要があることを改めて確認した。

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

渡辺麻衣子、西角光平、岡田信彦、工藤由起子、今村知明、食品容器・包装およびそれらの素材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、日本食品衛生学会第119回学術集会、令和5年10月12日（東京）

H. 知的財産権の出願・登録状況

無し

表 1. 供試試料一覧

主な素材をもとに した分類	試料名称	表面加工
ポリスチレン類	高衝撃性ポリスチレン (GPPS)	無し
	高透明ポリスチレン (HIPS)	無し
	発泡スチレン	無し
ポリプロピレン類	ポリプロピレン素材	サンドブラスト加工
	ポリプロピレン素材	無し
	野菜包装用袋	無し
	耐熱食品容器フタ	無し
紙類	食品用耐油耐水紙	耐油耐水加工
	食品用耐油耐水紙	無し（加工面の裏側）
	未晒クラフト紙	ポリエチレンコーティング
	未晒クラフト紙	無し（加工面の裏側）

表 2. 溶出液の陰性対照に対するウィルス感染力価の減少効果

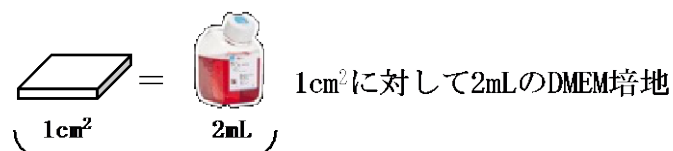
試験区	溶出に用いた試料片	ウィルス感染力価 ($\log_{10}$ TCID ₅₀ /mL) *1	対数減少値 ($\Delta \log$) *2	陰性対照に 対する減少率 (%) *3
25℃・ 1 時間	GPPS	4.9	0.6	74.9
	HIPS	5.0	0.5	68.4
	発泡スチレン	4.5	1.0	90.0
	ポリプロピレン素材（表面加工無し）	5.2	0.3	49.9
	ポリプロピレン素材（表面サンドブラスト加工）	4.8	0.7	80.0
	野菜包装袋	5.4	0.1	20.6
	耐熱性食品容器フタ	5.5	減少なし	減少なし
	食品用耐油耐水紙（耐油耐水加工無し面）	5.4	0.1	20.6
	食品用耐油耐水紙（耐油耐水加工有り面）	4.6	0.9	87.4
	未晒クラフト紙（表面加工無し面）	4.9	0.6	74.9
	未晒クラフト紙（表面ポリエチレンコーティング面）	5.1	0.4	60.2
	DMEM（陰性対照）	5.5	—	—
37℃・ 1 時間	GPPS	4.9	0.6	74.9
	HIPS	4.9	0.6	74.9
	発泡スチレン	4.6	0.9	87.4
	ポリプロピレン素材（表面加工無し）	5.1	0.4	60.2
	ポリプロピレン素材（表面サンドブラスト加工）	5.0	0.5	68.4
	野菜包装用袋	5.4	0.1	20.6
	耐熱性食品容器フタ	6.0	減少なし	減少なし
	食品用耐油耐水紙（耐油耐水加工無し面）	4.7	0.8	84.2
	食品用耐油耐水紙（耐油耐水加工有り面）	4.8	0.7	80.0
	未晒クラフト紙（表面加工無し面）	4.8	0.7	80.0
	未晒クラフト紙（表面ポリエチレンコーティング面）	4.8	0.7	80.0
	DMEM（陰性対照）	5.5	—	—

*1：TCID₅₀ 法により算出した溶出液中のウィルス感染力価測定値。実験値は繰り返し実験（N=3）における平均値を示す。

*2：陰性対照に対する試験区のウィルス感染力価の対数減少値

*3：陰性対照に対する試験区のウィルス感染力価の少率

①試料片表面添加物の溶出



溶出条件

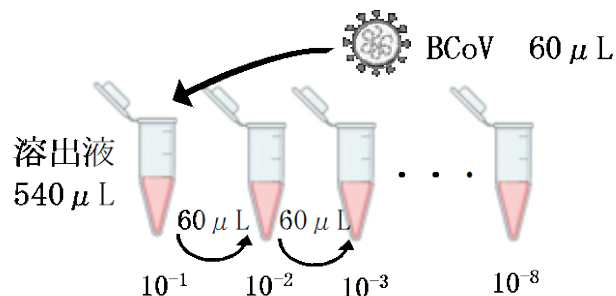
試験区(11試料 各3回)

①25℃・1h ②37℃・1h

予備試験区(11試料 各1回)

③25℃・10min

②ウイルスの添加



③TCID₅₀法：培養細胞にウイルスを感染、感染力価算出

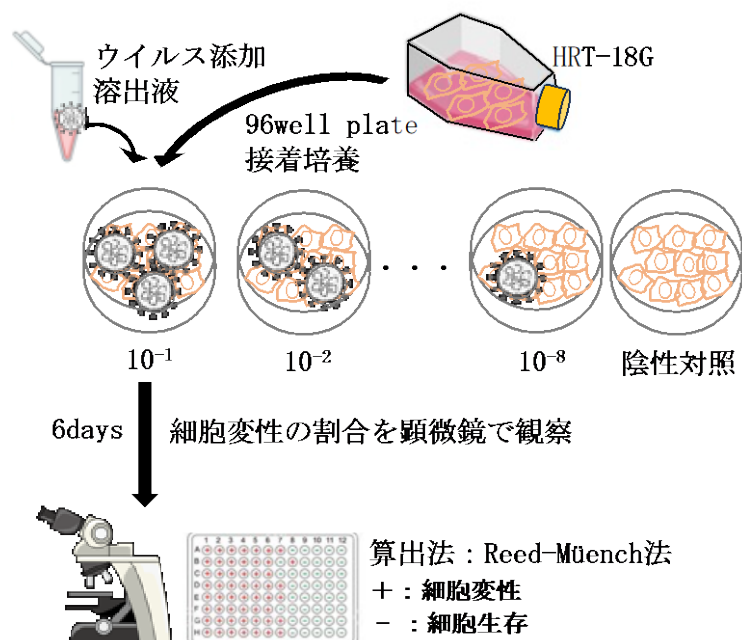


図 1. 試料片添加物溶出実験とウシコロナウイルス感染力価測定実験の流れ図

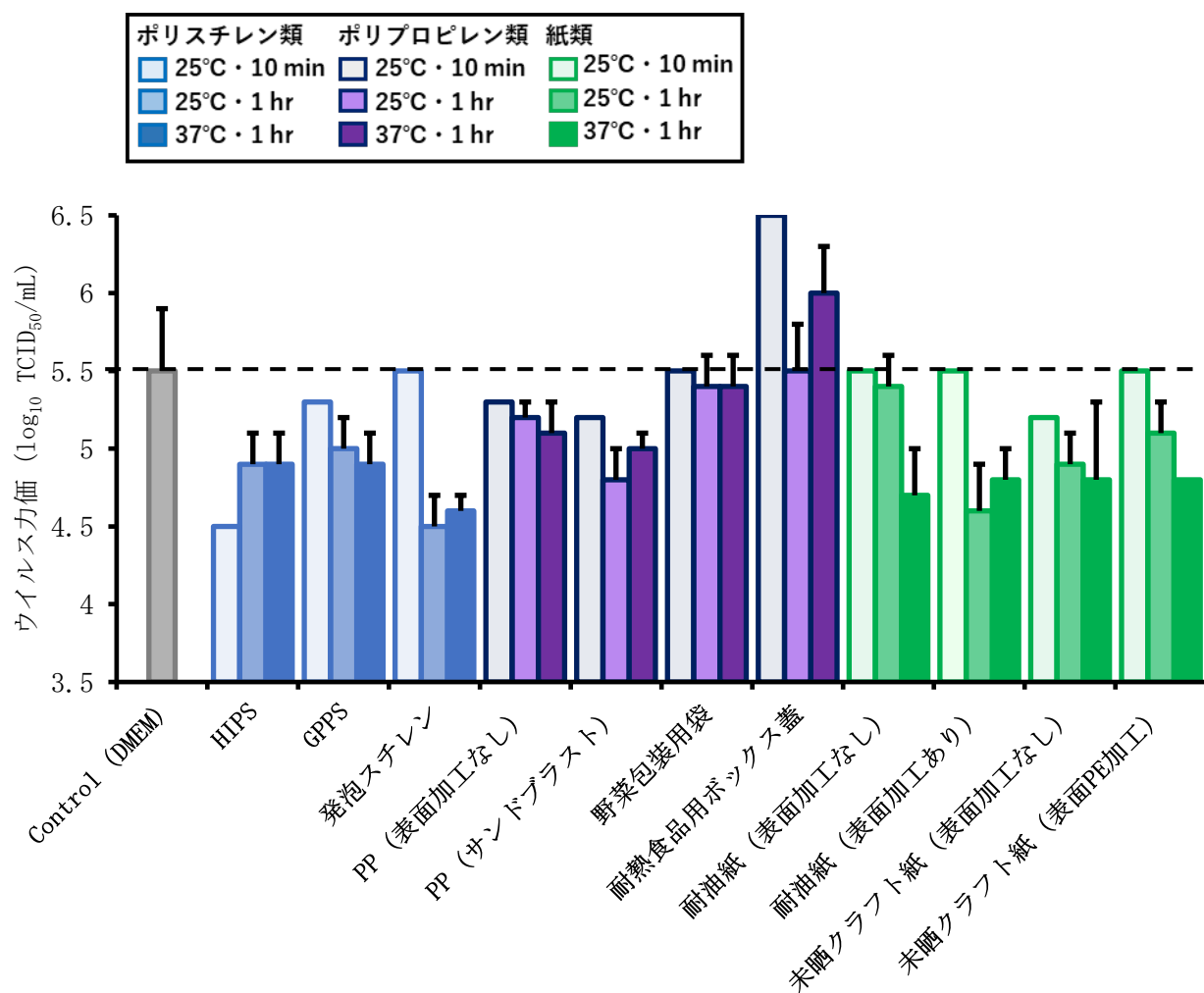


図 2. 試料片添加物溶出を用いたウシコロナウイルス感染力価測定結果の比較

破線は、陰性対照として、溶出実験を行っていない DMEM のみを用いてウイルスと細胞に作用させた際に得られたウイルス力価 ($5.5 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$) を示した。