

第5 調査研究

1 報文

令和5年度BG-センチネル™2トラップによる京都市内における蚊の成虫生息調査

Survey of mosquitoes in Kyoto city using BG-Sentinel™2 trap in 2023

管理課（調査研究担当）

Management section（investigation and study）

抄録

京都市内の各区モニタリング担当である医療衛生コーナーを有する区役所（11か所）において、臭気吸引トラップ「BG-センチネル™2トラップ」による採集法を用いて蚊の成虫生息調査を実施した。採集した蚊成虫の合計は322個体で、その種構成はヒトスジシマカ *Aedes albopictus* 234個体、ヤマトヤブカ *Aedes japonicus* 14個体、アカイエカ群 *Culex pipiens group* 71個体、コガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus* 3個体、シナハマダラカ *Anopheles sinensis* 及びその他の蚊は採集されなかった。ヒトスジシマカとアカイエカ群の季節消長調査では、ヒトスジシマカは4月下旬から採集され始め、9月下旬にピークを示し、12月中旬には採集されなくなった。アカイエカ群は4月上旬から採集され始め、7月上旬にピークを示し、11月上旬まで採集された。蚊成虫生息調査の結果、京都市内にはヒトスジシマカやアカイエカ群など蚊媒介感染症を媒介する蚊が広域に生息していることがわかった。

キーワード

BG-センチネル™2トラップ BG-Sentinel™2 trap、ヒトスジシマカ *Aedes albopictus*、アカイエカ群 *Culex pipiens group*、コガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus*、ヤマトヤブカ *Aedes japonicus*、シナハマダラカ *Anopheles sinensis*

1 はじめに

現在日本で流行する可能性のある蚊媒介感染症として、デング熱、チクングニア熱、ジカウイルス感染症、ウエストナイル熱及び日本脳炎が挙げられ、国内でこれらの感染症を媒介する主たる蚊は、ヒトスジシマカ、アカイエカ群及びコガタアカイエカである。

京都市は、厚生労働省が平成27年に制定した「蚊媒介感染症に関する特定感染症予防指針」に基づき、「京都市蚊媒介感染症対応マニュアル」を策定し、蚊媒介感染症に対する取り組みを行っている。媒介蚊対策として、各区モニタリング担当（医療衛生コーナー）を有する区役所及び大規模公園（1地点）で蚊成虫生息調査を実施し、市内における蚊の発生動向を把握している。

そこで、令和5年度に実施した各区モニタリング担当における蚊成虫生息調査の結果について概要をまとめたので報告する。

2 調査方法

(1) 調査実施日（表1）

調査実施日は、令和5年4月11日から11月21日までの期間で月2回と12月12日及び令和6年3月21日とした。

(2) 調査地点（図1）

調査地点は、各区モニタリング担当である医療衛生コー

ナーを有する区役所（11か所）の敷地内とした。

(3) 調査方法

臭気吸引トラップ「BG-センチネル™2トラップ」（以下「BG-2トラップ」という）による採集法を用いて調査した。BG-2トラップは、吸引口が地上高1.5～1.8mの位置になるよう設置し、調査実施日の午後1時に採集を開始、24時間経過後に回収した（図2）。

採集した蚊成虫は、形態学的にヒトスジシマカ、アカイエカ群、コガタアカイエカ、シナハマダラカ、ヤマトヤブカ及びその他の蚊に分類し、さらに雌雄に分けて計数した。



図2 カーポートに設置したBG-2トラップ（矢印）

表1 調査実施日

月	日	
R5年 4月	11日	25日
5月	9日	23日
6月	6日	20日
7月	11日	25日
8月	8日	22日
9月	12日	26日
10月	10日	24日
11月	7日	21日
12月	12日	
R6年 3月	21日	

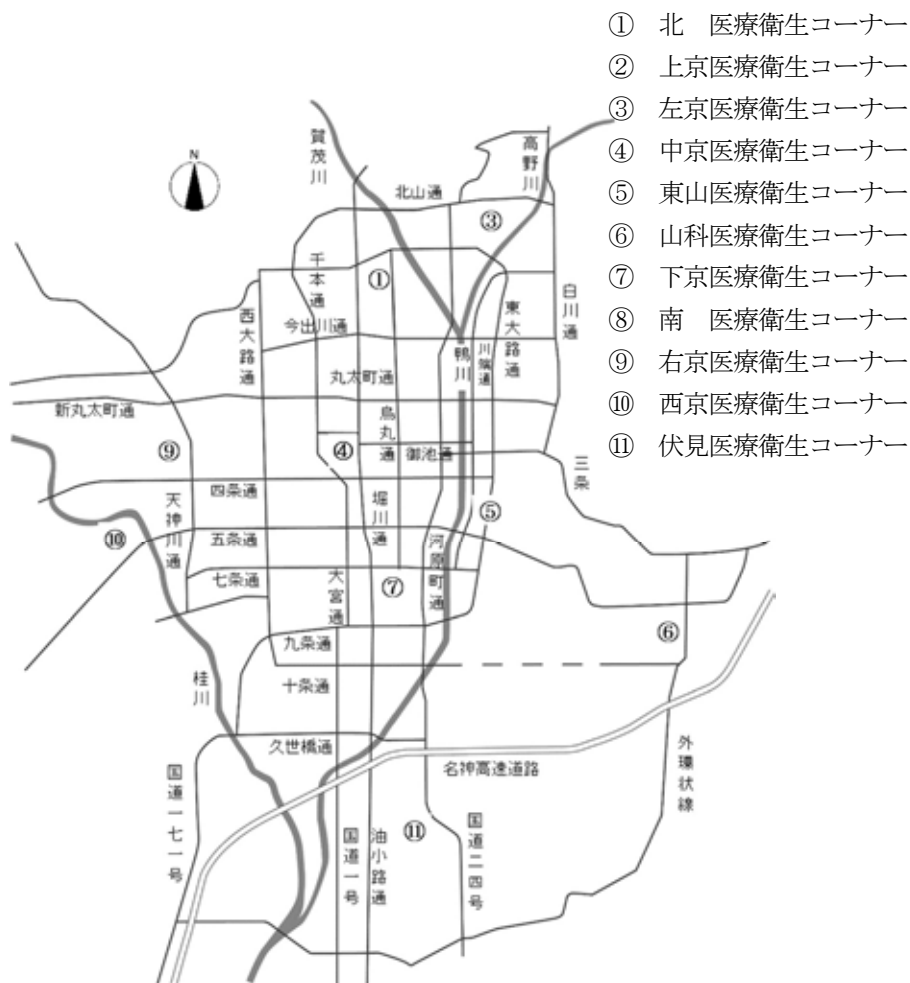


図1 調査地点

3 結果

(1) 採集数と種構成 (図3)

全調査地点で採集された蚊成虫の合計は322個体で、その種構成は、ヒトスジシマカが234個体(72.7%)で最も多く、次いで、アカイエカ群が71個体(22.0%)、ヤマトヤブカが14個体(4.3%)、コガタアカイエカが3個体(0.9%)、シナハマダラカとその他の蚊は採集されなかった。

(2) 調査地点別採集数 (表2)

ヒトスジシマカは10地点で採集され、南医療衛生コーナーの79個体が最も多く、次いで、中京医療衛生コーナーの44個体、右京医療衛生コーナーの27個体であった。左京医療衛生コーナーでは採集されなかった。

アカイエカ群は9地点で採集され、山科医療衛生コーナ

ーの18個体が最も多く、次いで、北医療衛生コーナー及び東山医療衛生コーナーの13個体、中京医療衛生コーナーの7個体であった。西京医療衛生コーナー、伏見医療衛生コーナーでは採集されなかった。

ヤマトヤブカは6地点で採集され、左京医療衛生コーナーの8個体が最も多く、次いで、北区医療衛生コーナーの2個体であった。

コガタアカイエカは北医療衛生コーナー、中京医療衛生コーナー及び下京医療衛生コーナーでそれぞれ1個体が採集された。

シナハマダラカ、その他の蚊は採集されなかった。

表2 調査地点別採集数

調査地点	ヒトスジシマカ			ヤマトヤブカ			アカイエカ群			コガタアカイエカ			シナハマダラカ			その他の蚊		
	雌	雄	計	雌	雄	計	雌	雄	計	雌	雄	計	雌	雄	計	雌	雄	計
北医療衛生コーナー	5	11	16	0	2	2	3	10	13	0	1	1	0	0	0	0	0	0
上京医療衛生コーナー	1	1	2	0	0	0	4	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
左京医療衛生コーナー	0	0	0	4	4	8	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
中京医療衛生コーナー	33	11	44	0	0	0	2	5	7	1	0	1	0	0	0	0	0	0
東山医療衛生コーナー	0	5	5	1	0	1	7	6	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0
山科医療衛生コーナー	18	2	20	1	0	1	9	9	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0
下京医療衛生コーナー	10	11	21	1	0	1	1	1	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0
南医療衛生コーナー	52	27	79	0	0	0	2	4	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
右京医療衛生コーナー	16	11	27	0	0	0	1	4	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
西京医療衛生コーナー	6	0	6	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
伏見医療衛生コーナー	8	6	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
小計	149	85	234	8	6	14	32	39	71	1	2	3	0	0	0	0	0	0
合計	322																	

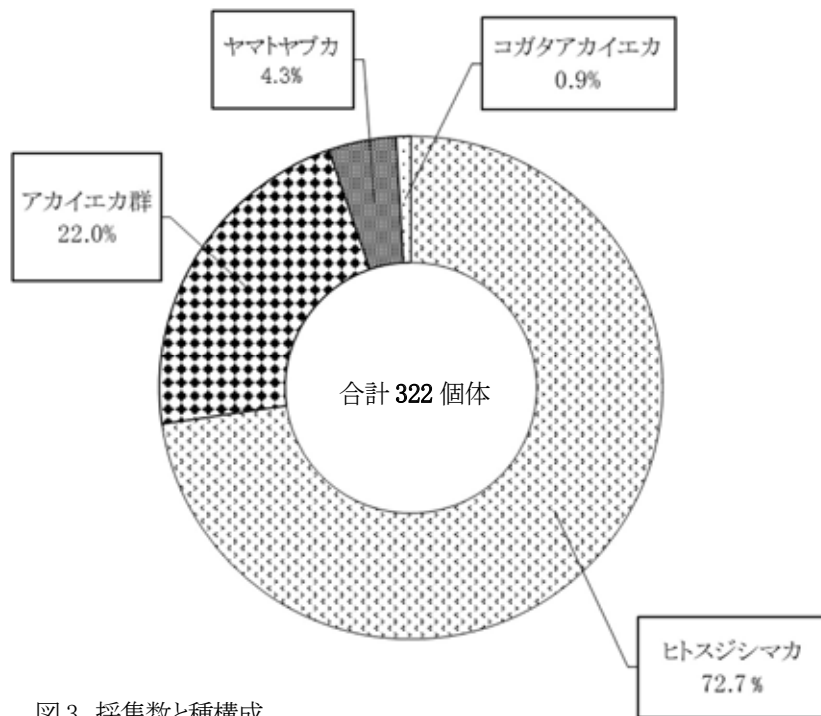


図3 採集数と種構成

(3) 調査日別採集数 (図4)

ヒトスジシマカは4月25日から採集され、気温の上昇と共に増加が認められた。9月26日の54個体をピークに減少し、11月21日の1個体を最後に採集されなくなった。

アカイエカ群は4月11日から採集され、7月11日の18個体をピークに減少し、11月7日まで採集された。

ヤマトヤブカは4月25日から採集されたものの、継続し

て採集されず11月7日の1個体を最後に採集されなかった。

コガタアカイエカは6月20日の2個体と11月7日の1個体が採集された。

その他の蚊、シナハマダラカは採集されなかった。

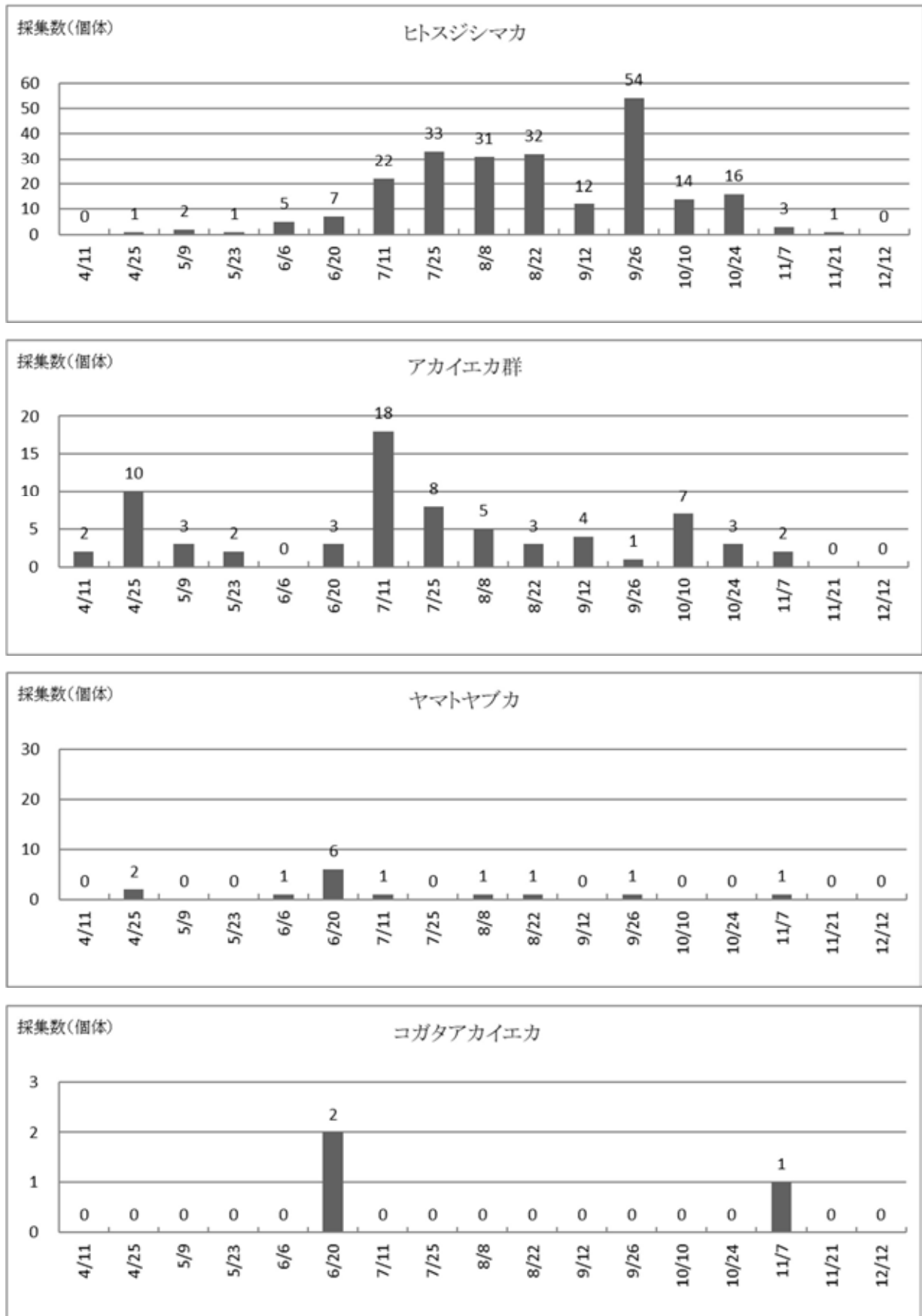


図4 調査日別採集数

(4) ヒトスジシマカとアカイエカ群の過去2年における季節消長の比較(図5) ※3月は除く。

令和5年度のヒトスジシマカは4月下旬から採集された。これは令和4年度と同様の結果で、令和3年度より遅い結果であった。採集数のピークは9月下旬で、令和4年度の8月上旬、令和3年度の7月下旬よりも遅い結果であった。ピークの後、蚊の採集数は10月にかけて徐々に減少し、12月上旬には採集されなくなった。これは、過去2年間と比較して、やや遅い結果であった。調査期間に得られた総採集数は234個体で、令和4年度の186個体より多く、令和3年度の233個体とほぼ同じ結果であった。

アカイエカ群は、4月上旬から採集された。これは、令和4年度と同様で、令和3年度の4月下旬よりも早い結果であった。採集数のピークは7月中旬で、令和4年度の6月上旬と比較して早い結果であった。令和5年度の最後の採集は11月上旬であったが、これは令和4年度の10月下旬より遅く、令和3年度の12月中旬よりかなり早い結果であった。総採集数は71個体で、令和4年度の53個体より多く、令和3年度の38個体より多い結果であった。

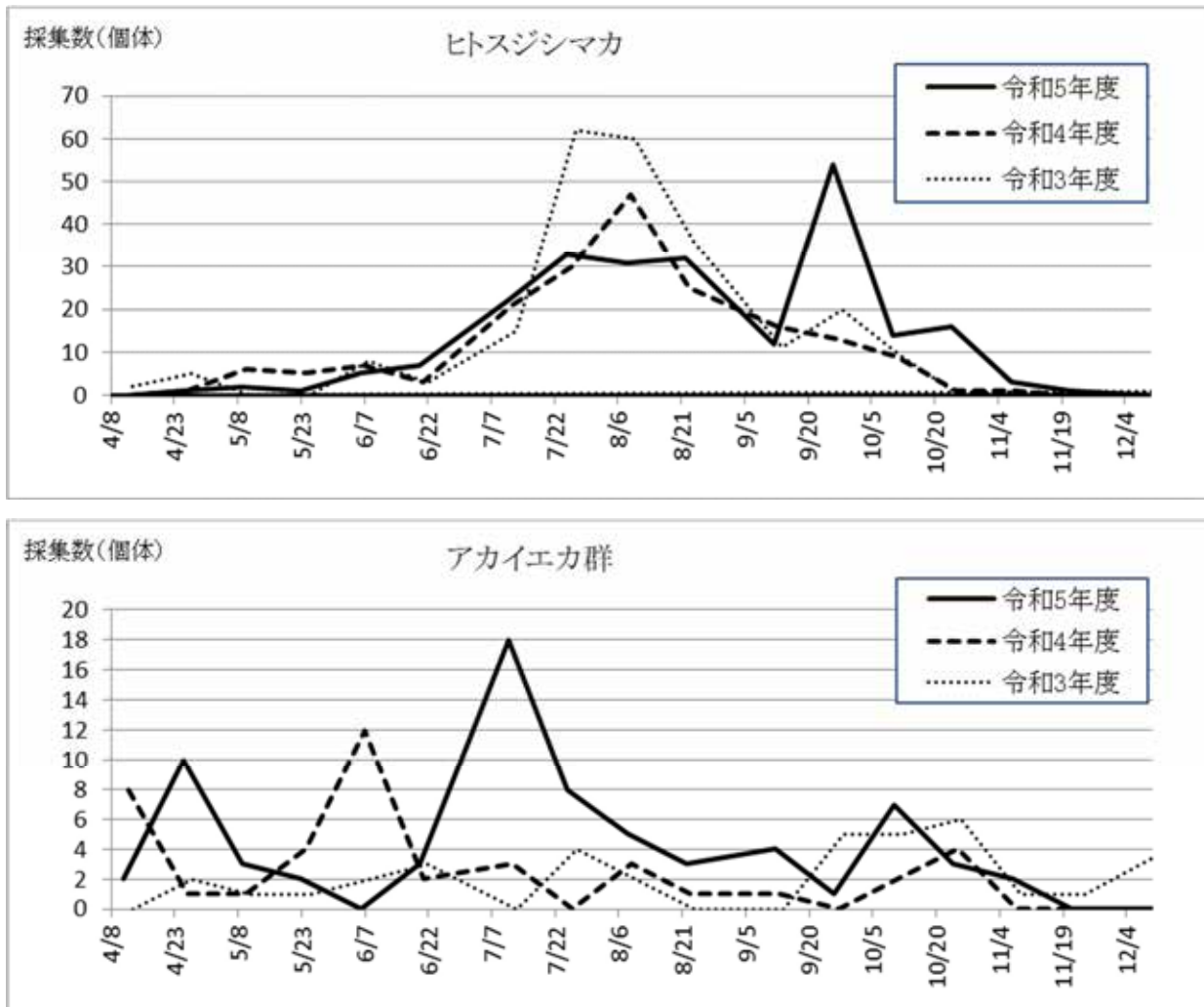


図5 ヒトスジシマカとアカイエカ群の過去2年における季節消長の比較

4 考察

(1) ヒトスジシマカ

ヒトスジシマカはデング熱、ジカウイルス感染症、チクングニヤ熱などのウイルスを媒介し、これらを流行させるベクターである。

近年、東南アジア諸国のみならず、南米でデング熱の流行が急激に広がっており、海外での感染リスクは拡大している状況にある。

また、多くの海外旅行者を迎えている京都市では、蚊媒介感染症の発生地域からの旅行者も多く、市内で感染者が発生する可能性を危惧していたところ、2019年10月に東京都で高校生2人が京都、奈良を修学旅行で訪問した後にデング熱を発症する事例が発生した。発症の経緯から京都市内の観光地で感染した可能性は否定できない。2020年から世界は新型コロナウイルス感染症の感染拡大、いわゆる「コロナ禍」に見舞われ、日本でも海外

からの訪日旅行者はほぼない事態となったことから、国内でデング熱が発生する可能性はほとんどない状況となった。しかしながら、2023年は海外からの訪日旅行者がコロナ禍前に戻りつつあったことから、再びデング熱の感染が危惧された。

令和5年度のヒトスジシマカは4月下旬から採集されたが、これは令和4年度と同様で、令和3年度より2週間ほど遅い結果であった。採集数のピークは9月下旬で、令和4年度の8月上旬より遅く、令和3年度の7月下旬より遅い結果であった。その後、採集数は10月にかけて徐々に減少し、12月中旬には採集されなくなった。過去の蚊成虫生息調査から、ヒトスジシマカの発生時期や終息時期は、調査年度の気温や雨量が大きく影響していると考えられる。例年採集数のピーク時期は7月～9月であるが、気温の変化の影響で、ピーク時期が前後する傾向が認められる。

ヒトスジシマカは北海道を除いた日本各地の様々な環境に適応して生息しており、その根絶は非常に難しい。したがって、蚊媒介感染症の対策として、媒介蚊の発生状況の把握、生息状況や季節消長など基礎情報を収集し、平常時のリスク評価を行うことが重要である。地球温暖化の影響で、気温や雨量が著しく変動することから、ヒトスジシマカの発生や生息状況の変化について継続的な調査や検証が重要である。

(2) アカイエカ群

1999年にウエストナイルウイルスによる患者が発生した米国では4年で全米に拡がり、毎年2,000人以上の患者と100人以上の死亡者が出ている。わが国でも2003年に厚生労働省から「ウエストナイル熱の媒介蚊対策に関するガイドライン」が出された。ウエストナイルウイルスは鳥と蚊の間で感染環が維持され、主に蚊を介してヒトに感染し、発熱や脳炎を引き起こす。このため、ベクターとして重要なアカイエカ群の発生状況を把握しておくことは重要である。

令和5年度のアカイエカ群は、4月上旬に採集され始め、7月中旬にピークがあり、その後増減を繰り返しながら11月上旬まで採集された。

令和5年度に採集されたアカイエカ群の総数は71個体と少ないが、「BG-2トラップ」に変更してから少ない傾向が認められる。蚊に対する誘引度がトラップの種類で異なるため、ヒトスジシマカの採集数と単純比較することは難しいと考えられる。

(3) ヤマトヤブカ

ヤマトヤブカは北海道から九州に広く分布し、神社仏閣

や墓地、広葉樹林、竹林などに生息している。ヒトスジシマカと同様に昼間吸血性で人吸血性があるとされ、日本脳炎ウイルスやウエストナイルウイルスを媒介する危険性があるとされている。

令和5年度の総採集数は14個体で、令和4年度の40個体、令和3年度の38個体から比較すると非常に少なくなっている。気温や雨量の変化などが、ヤマトヤブカの発生や生息環境に影響している可能性がある。

また、過去の実績では、採集される地点は上京、北、左京、東山医療衛生コーナーに限局されていたが、ここ数年新たな地点での発生が見られた。周辺環境に変化があるのかも含めて、今後の採集経過を注視していきたい。

(4) コガタアカイエカ

今年度は3個体が採集された。コガタアカイエカは遠距離を飛翔して吸血源を探すタイプの蚊であることから、採集された地点の周辺に発生源がなくても採集されることがある。西日本で採集されたコガタアカイエカから日本脳炎ウイルスが検出されていることや、豚の日本脳炎抗体保有状況において陽性豚が検出されていることから、京都市内でコガタアカイエカが採集されていることは、日本脳炎患者の発生につながる可能性もあるため、今後の調査には注意が必要である。

(5) シナハマダラカ

今年度は採集されなかったが、過去には採集された実績がある。現在、日本ではマラリアの発生はないが、シナハマダラカはマラリアを媒介する重要なベクターであることから、今後の調査には注意が必要である。

(6) その他の蚊

今年度は採集されなかったが、過去には一旦種が不明の蚊として計上され、後にオオクロヤブカと同定したことがある。京都市内の山間部や河川沿いなどには多くの種類の蚊が生息していると推測されることから、偶発的に採集された可能性も否定できない。

5 まとめ

BG-2トラップによる京都市内における蚊の生息調査の結果、ヒトスジシマカやアカイエカ群、コガタアカイエカなど蚊媒介感染症を媒介する蚊が広域にわたり生息していることがわかった。

京都市内における蚊の生息状況については「京都市蚊媒介感染症対応マニュアル」に基づき、今後も継続的に調査を行い、モニタリング地点における採集データを蓄積し、蚊の発生や消長の解析、遺伝子検査などを行っていく必要がある。

令和5年 京都市感染症発生動向調査事業における病原体検査成績

微生物部門

Detection of pathogenic agents in the Kyoto City Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in 2023

Division of Microbiology

Abstract

Virological and bacteriological tests were performed using various specimens from patients in the Kyoto City Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in 2023. Of 84 patients, 34 were positive for viral and/or bacterial agents. An annual detection rate of these agents was 40.5% of the surveyed patients. 18 strains of viruses and 17 strains of bacteria were detected in total. *Seasonal Influenza viruses* were detected from the patients with influenza in september. Enteroviruses were detected from April to october. Various types of viruses were detected especially in the 1-4 year age group.

Key Words

Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases 感染症発生動向調査、*Influenzavirus* インフルエンザウイルス

1 はじめに

本市では、昭和57年度から京都市感染症発生動向調査事業を行っている。当所においては、流行性疾病の病原体検索を行い、検査情報の作成と還元を行うとともに、各種疾病と検出病原体との関連について解析を行っている。本報告では、2023年（令和5年1月から12月まで）に実施した病原体検査成績を述べる。

2 材料と方法

(1) 検査対象感染症

令和5年1月から12月までに病原体検査を行った疾病は、感染性胃腸炎、インフルエンザ、ヘルパンギーナ、咽頭結膜熱、手足口病、感染性髄膜炎、A群溶血性レンサ球菌咽頭炎、流行性角結膜炎、RSウイルス感染症、その他の計10疾病であった。

検査材料は、市内4箇所の病原体定点（小児科定点4箇所、インフルエンザ定点4箇所、眼科定点1箇所、基幹定点1箇所）の医療機関の協力により採取されたもので、患者84名から、ふん便55検体、鼻咽頭ぬぐい液28検体、髄液4検体、咽頭うがい液3検体、眼結膜ぬぐい液1検体、その他1検体の計95検体について検査を行った。

(2) 検査方法

ア ウイルス検査

検査材料を常法により前処理した後、培養細胞（FL「ヒト羊膜由来細胞」、RD-18S「ヒト胎児横紋筋腫由来細胞」及びVero「アフリカミドリザル腎由来細胞」）を用いてウイルス分離を行った。インフルエンザウイルスの分離には、培養細胞（MDCK「イヌ腎由来細胞」）を使用した。

分離したウイルスの同定には、中和反応、ダイレクトシーケンス法、蛍光抗体法（FA）及びリアルタイムRT-PCR法を用いた。

ロタウイルス、アデノウイルスの抗原検出には免疫クロマト法（IC）を用い、ノロウイルスについてはリアルタイムRT-PCR法により遺伝子検出を行った。

イ 細菌検査

検査材料を、直接若しくは増菌培養後に分離培地に塗抹して分離を行った。

ふん便には、ドリガルスキー改良培地、SS寒天培地、TCBS寒天培地、エッグヨーク食塩寒天培地等を用いた。鼻咽頭ぬぐい液には、Q培地及び羊血液寒天培地（溶血性レンサ球菌）等を用いた。髄液は、遠心分離して得られた沈渣を羊血液寒天培地及びチヨコレート寒天培地に塗抹して分離を行った。

分離した細菌の同定は、鏡検、生化学的性状検査、血清凝集反応、PCR法等により行った。

3 成績及び考察

(1) 月別病原体検出状況（表 1）

各月の受付患者数は、5 月、7 月、12 月が各 13 名と多かった。年間の受付患者 84 名のうち 34 名から 35 株の病原微生物を検出し、受付患者当たりの検出率は 40.5%であった。

ウイルス検査では、被検患者 83 名中 17 名から 18 株のウイルスを検出した。被検患者当たりのウイルス検出率は 20.5%であった。

検出ウイルスの季節推移をみると、例年夏季を中心に流行するエンテロウイルスは 4 月～6 月及び 8 月～10 月に検出した。また、例年年間を通して検出が見られるアデノウイルスは 12 月にのみ検出した。ノロウイルスは、6 月～8 月に検出した。RS ウイルスは 4 月、5 月に検出した。インフルエンザウイルスは 9 月に AH1pdm09 型を検出した。

細菌検査では、被検患者 52 名中 17 名から 17 株の病原細菌を検出し、患者当たりの検出率は 32.7%であった。

下痢原性大腸菌を 3 月～7 月及び 10 月～12 月に検出し、黄色ブドウ球菌は 5 月にのみ、また、サルモネラ属菌は 8 月にのみ検出した。

(2) 感染症別病原体検出状況（表 2）

感染性胃腸炎は、受付患者数の 58.3%、インフルエンザ、ヘルパンギーナ、咽頭結膜熱、RS ウイルス感染症、A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎などの呼吸器疾患は、33.3%を占めていた。

主な感染症別の病原体検出率は、咽頭結膜熱が 71.4%、インフルエンザ及び手足口病が 50.0%、RS ウイルス感染症が 42.9%、感染性胃腸炎が 40.8%、感染性髄膜炎が 33.3%、ヘルパンギーナが 27.3%であった。

主な感染症について、ウイルスの検出状況をみると、

感染性胃腸炎では、ノロウイルス 1 種 3 株を、インフルエンザでは、インフルエンザウイルス I 種 1 株を、ヘルパンギーナではエンテロウイルス 3 種 3 株を、咽頭結膜熱ではエンテロウイルス 3 種 3 株、アデノウイルス 1 種 1 株、RS ウイルス 1 株の計 5 種 5 株を、手足口病からエンテロウイルス I 種 1 株を、感染性髄膜炎では、エンテロウイルス 2 種 2 株を、RS ウイルス感染症から RS ウイルス 3 株を検出した。

また、細菌の検出状況をみると、感染性胃腸炎から、黄色ブドウ球菌 1 株、サルモネラ属菌 1 株、下痢原性大腸菌 15 株の計 17 株を検出した。

(3) 年齢階層別病原体検出状況（表 3）

受付患者の年齢階層別分布をみると、1～4 歳が 50 名 (59.5%) で最も多く、次いで 0 歳の 17 名 (20.2%)、5～9 歳の 15 名 (17.9%) で、10～14 歳及び 15 歳以上は各 1 名 (1.2%) であった。

年齢階層別の受付患者当たりの検出率は、0 歳が 29.4% (ウイルス 4 種 4 株、細菌 1 種 1 株)、1～4 歳が 40.0% (ウイルス 8 種 10 株、細菌 1 種 11 株)、5～9 歳が 46.7% (ウイルス 2 種 2 株、細菌 2 種 5 株)、10～14 歳が 100.0% (ウイルス 1 種 1 株)、15 歳以上が 100.0% (ウイルス 1 種 1 株) であった。

エンテロウイルスは 1～4 歳で 5 種 5 株、0 歳で 3 種 3 株、5～9 歳で 1 種 1 株、アデノウイルスは 1～4 歳で 1 種 1 株を検出した。ノロウイルスは 1～4 歳で 1 種 1 株、5～9 歳で 1 種 1 株、10～14 歳で 1 種 1 株を検出した。RS ウイルスは 0 歳で 1 株、1～4 歳で 3 株を検出した。インフルエンザウイルスは 15 歳以上で AH1pdm09 型を 1 株検出した。

(4) 主な疾病と病原体検出状況

ア 感染性胃腸炎（図 1-1、図 1-2）

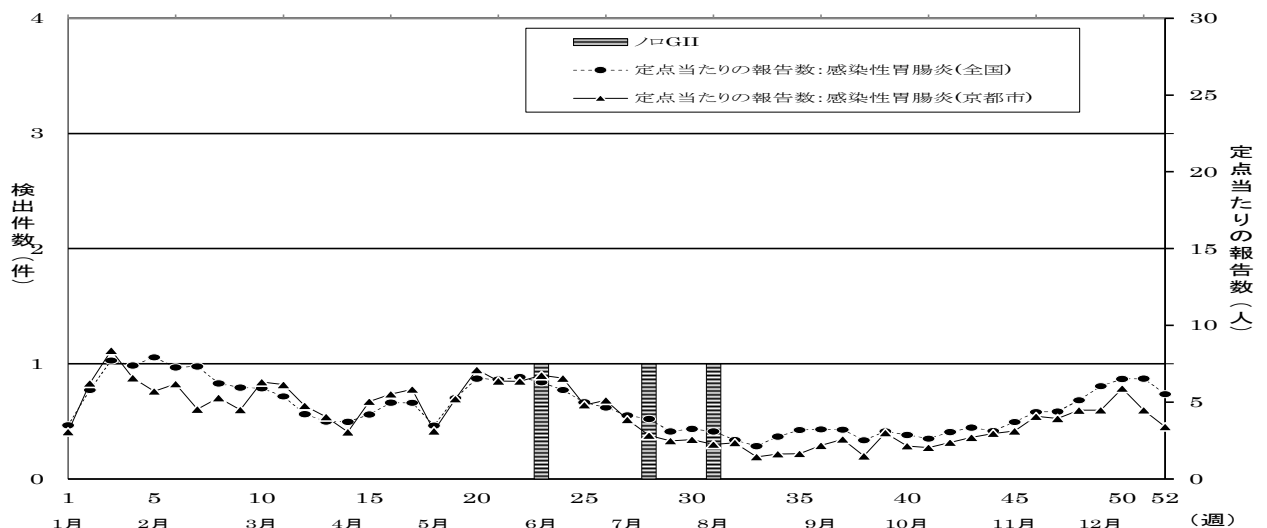


図 1-1 感染性胃腸炎患者における病原ウイルスの検出状況（令和 5 年）

臨床診断名が感染性胃腸炎の受付検患者 49 名のうち 20 名からウイルス 3 株及び細菌 17 株を検出した。ウイルスでは、6 月、7 月、8 月にノロウイルスの GII を 1 株ずつ検出した。アデノウイルス、ロタウイルス及びエンテロウイルスは検出しなかった。

細菌では、黄色ブドウ球菌を 5 月に 1 株、8 月に

サルモネラ属菌を 1 株、下痢原性大腸菌を 3 月及び 11 月にそれぞれ 4 株ずつ、7 月に 2 株、4 月～6 月、10 月及び 12 月にそれぞれ 1 株ずつ、計 17 株を検出した。

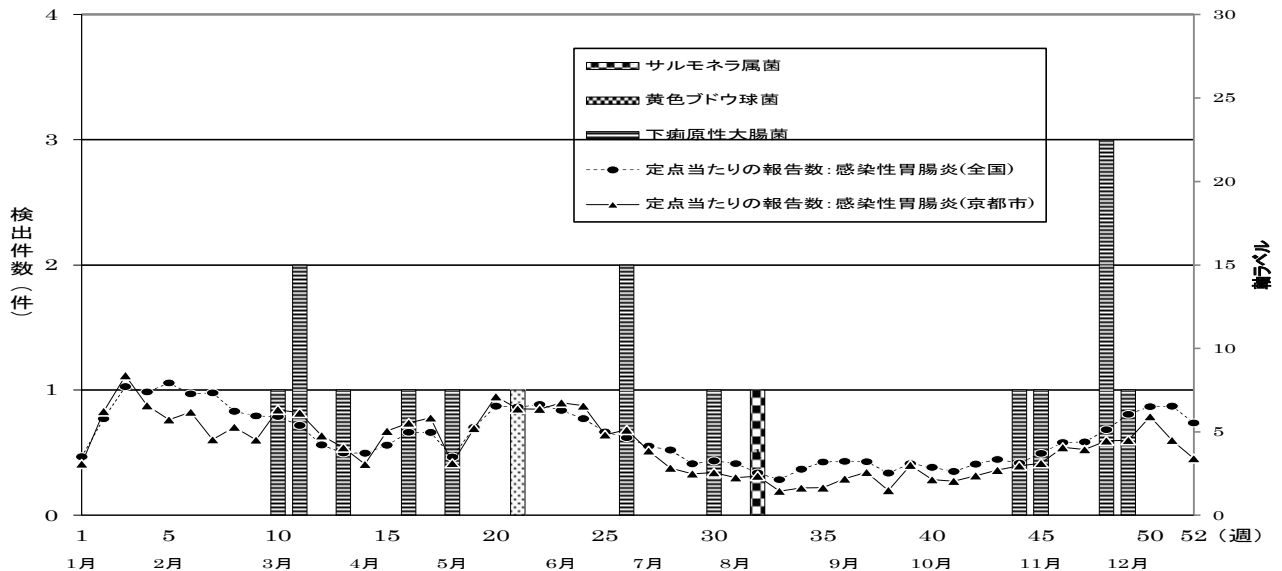


図 1-2 感染性胃腸炎患者における病原細菌の検出状況 (令和 5 年)

イ ヘルパンギーナ (図 2)

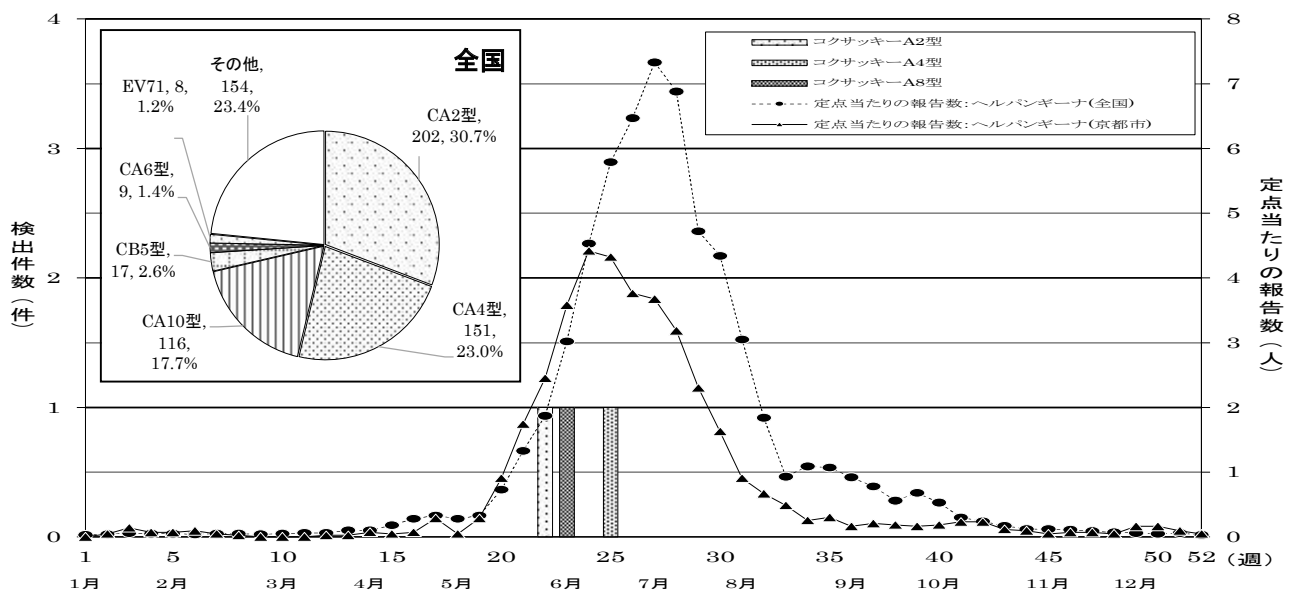


図 2 ヘルパンギーナ患者における病原ウイルスの検出状況 (令和 5 年)

ヘルパンギーナは例年、夏にかけて流行が見られる。令和 5 年は本市、全国共に 5 月から増加し始め、本市では 6 月、全国では 7 月にピークを示して以降、減少した。

臨床診断名がヘルパンギーナの受付患者数は 11 名でそのうち 3 名からコクサッキーウイルス A2 型、

A4 型、A8 型をそれぞれ 1 株ずつ計 3 株検出した。

全国の病原体検出状況では、令和 5 年は、コクサッキーウイルス A2 型 (30.7%)、A4 型 (23.0%)、A10 型 (17.7%) の順に検出された。

ウ インフルエンザ（図 3-1、図 3-2）

本市感染症発生動向調査患者情報によると、2022/23（R4/5）シーズンは令和 4 年 12 月の第 51 週に定点当たり報告数が 1.0 を超え、インフルエンザの流行期に入り、令和 5 年 1 月の第 5 週に警報レベル 30 を超えピークを形成後、減少し、終息を迎えた。全国でも同様に令和 4 年 12 月の第 51 週に定点当たり報告数が 1.0 を超え、流行期に入り令和 5 年

1 月の第 5 週に注意報レベルの 10 を超えた後、減少したが、シーズン終了まで 1.0 を下回ることなく推移した。

本市でのインフルエンザウイルス検出はなかった。全国では、2022/23（R4/5）シーズンは、AH1pdm09 型が 217 株、AH3 型が 3607 株、B 型が 91 株検出された。

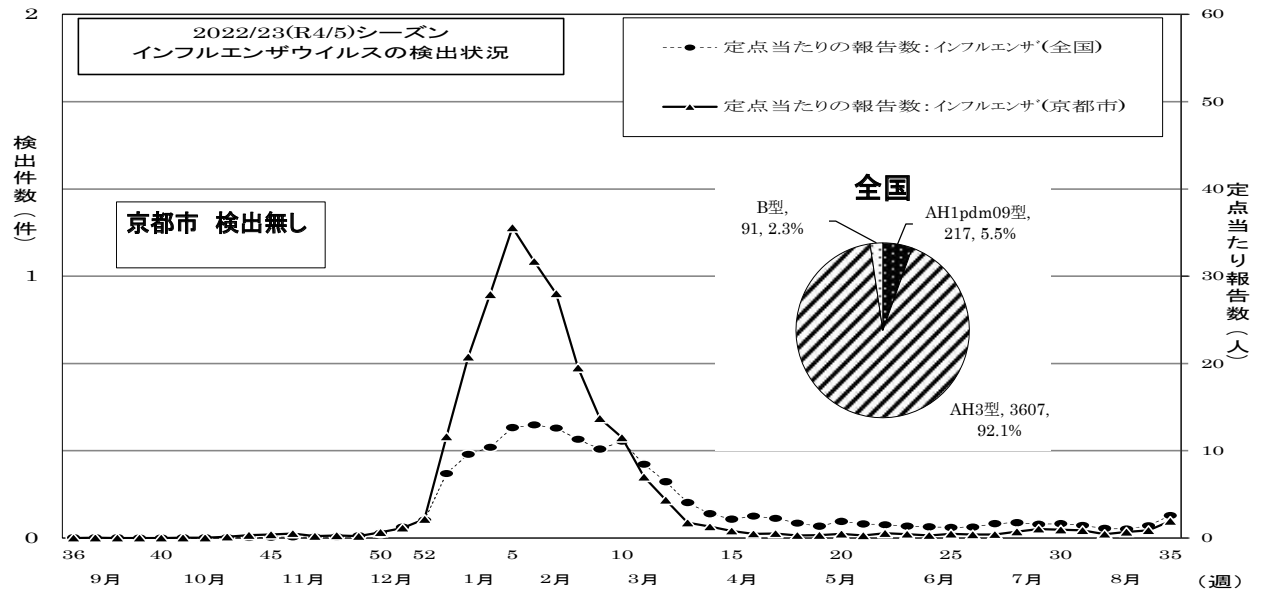


図 3-1 インフルエンザウイルスの検出状況（令和 4 年 9 月～令和 5 年

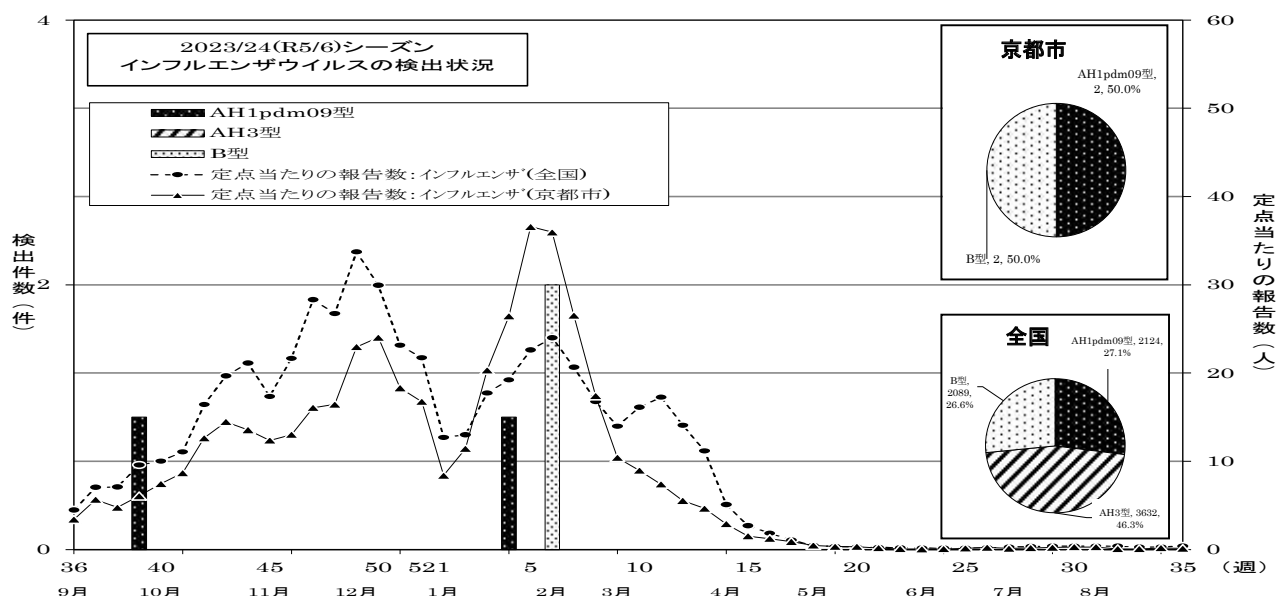


図 3-2 インフルエンザウイルスの検出状況（令和 5 年 9 月～令和 6 年 8 月）

また、本市感染症発生動向調査患者情報によると、2023/24（R5/6）シーズンは本市全国共に定点当たり報告数が 1.0 を超えてシーズン入りし、全国では

令和 5 年 12 月の第 49 週に、本市では第 50 週に一旦ピークを迎えた後減少後、再度増加し本市では令和 6 年の第 5 週に警報レベルを超えたのち減少した。

本市でのインフルエンザウイルス検出は令和5年第39週及び令和6年第4週にAH1pdm09型がそれぞれ1株、令和6年第6週にB型が2株検出された。全国では、2023/24(R5/6)シーズンは、AH1pdm09型が2,124株、AH3型が3,632株、B型が2,089株検出された。

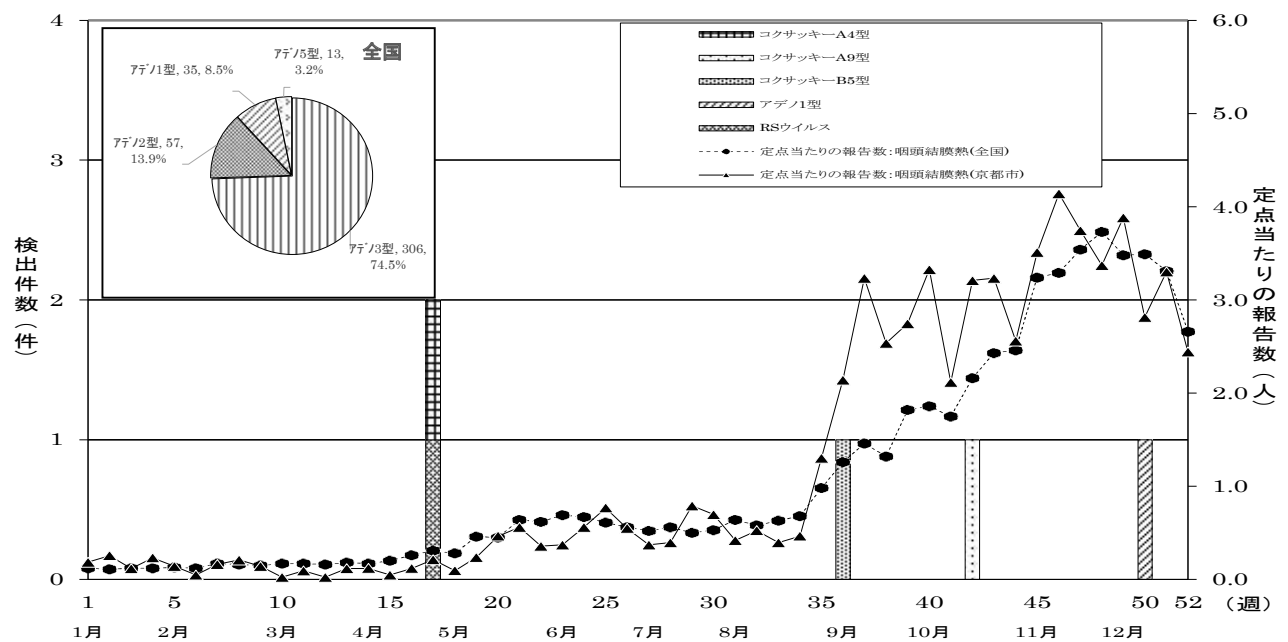
日本ではインフルエンザの非流行期と考えられていた夏季や、海外渡航後に発症した者からの検出報告も近年増えており、患者発生と流行ウイルスの型別とを迅速かつ的確に把握する感染症発生動向調査は、インフルエンザの流行予防対策のためにも、今後ますます重要になると考えられる。

エ 咽頭結膜熱(図4)

本市における臨床診断名が咽頭結膜熱の受付患者数は7名でそのうち5名からコクサッキーウイルスA4型、A9型、B5型をそれぞれ1株ずつ、アデノウイルス1型を1株、RSウイルスを1株の計5種5株

検出した。

令和5年の全国の咽頭結膜熱におけるアデノウイルスの検出状況では、3型が最も多く74.8%、次いで2型が13.9%、1型が8.5%、5型が3.2%であった。



オ 手足口病(図5)

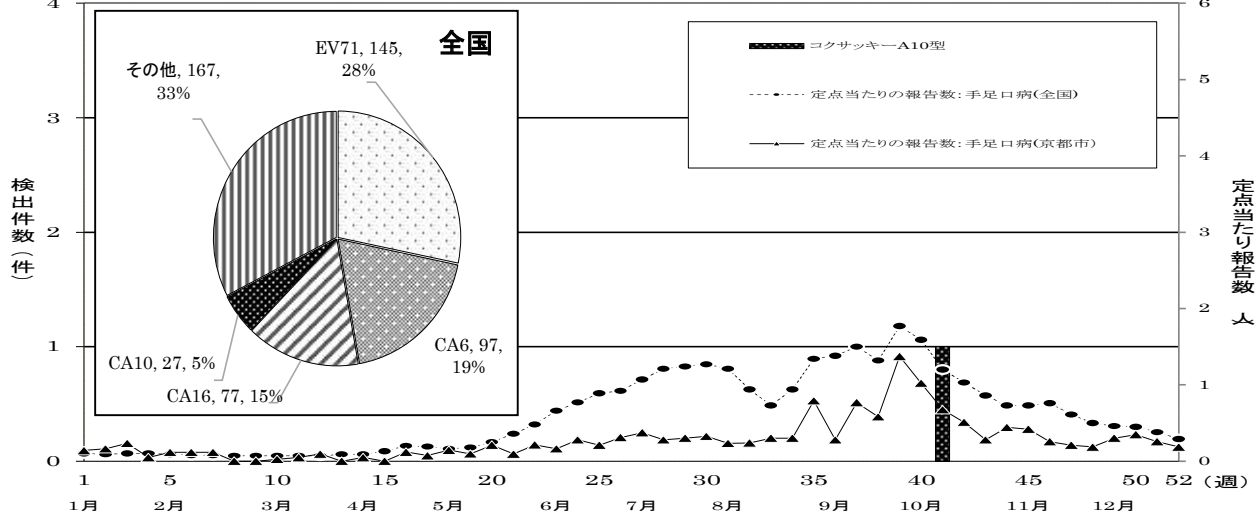


図5 手足口病患者における病原ウイルス検出状況(令和5年)

手足口病は例年、7月にピークが見られるが、令和5年は本市、全国共に6月から緩やかに増加し始め、本市全国共に9月（第39週）に小さなピークを示して以降、減少した。

手足口病を引き起こすウイルスとしては、コクサッキーA群ウイルス6型、10型、16型、エンテロウイルス71型が代表に挙げられるが、本市では、臨床診断名が手足口病の受付患者数は2名で、そのうち

1名からコクサッキーA群ウイルス10型を1株検出した。エンテロウイルス71型は検出しなかった。

また、全国での検出状況は、エンテロウイルス71型が145株（28.0%）、コクサッキーA群ウイルス6型が97株（19.0%）、16型が77株（15.0%）、10型が27株（5.0%）、その他167株（33.0%）の計513株であった。

カ A群溶血性レンサ球菌咽頭炎（図6）

本市における臨床診断名がA群溶血性レンサ球菌咽頭炎の受付患者数は1名あったが、A群溶血性レンサ球菌は検出しなかった。全国のT血清型別検出

比率をみると、劇症型溶血性レンサ球菌感染症事例で検出されることが多いT-1型の検出率は、全国で21.6%であった。

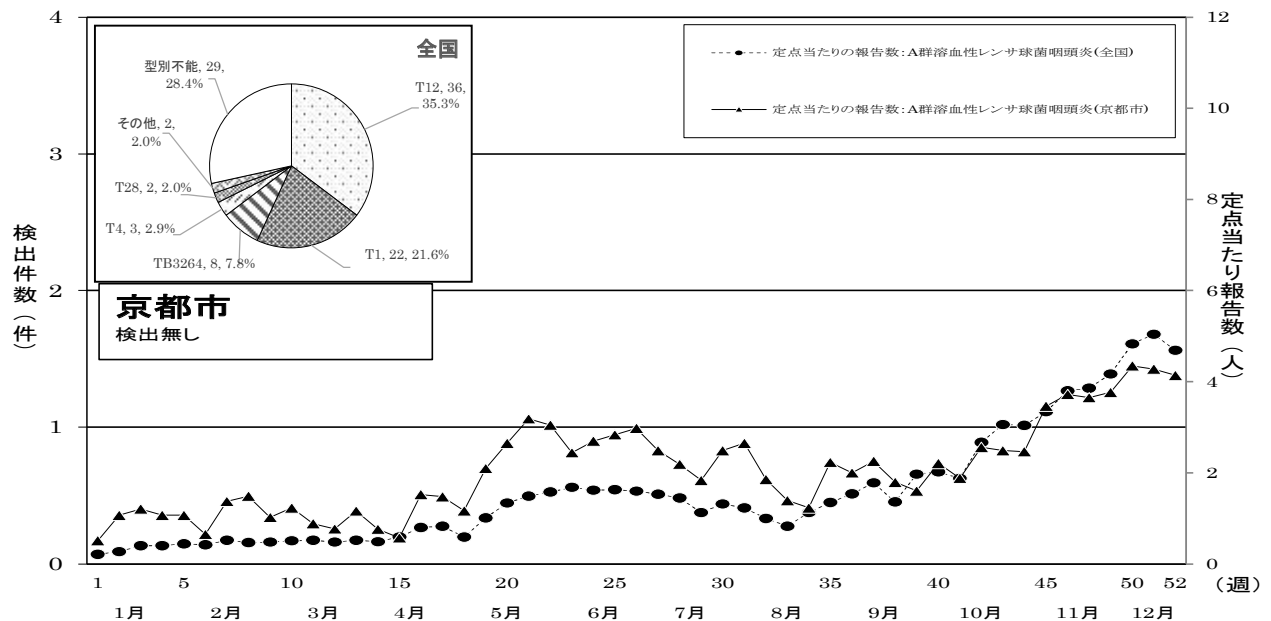


図6 A群溶血性レンサ球菌咽頭炎の報告数とT血清型別の病原体検出状況（令和5年）

(5) 検体別・検出方法別病原ウイルス検出状況（表4）

エコーウイルスは、11型の2株がともにRD-18S細胞で分離された。

コクサッキーウイルスA群は、2型、4型、8型、9型、10型をそれぞれ1株ずつ、遺伝子検査により検出、また4型の1株がRD-18S細胞で分離された。

コクサッキーウイルスB群は、5型の3株を遺伝子検査により検出した。

アデノウイルスは、1型が1株、イムノクロマト法及び、遺伝子検査により検出した。

ノロウイルスは、GⅡを3株、インフルエンザウイルス

は、AH1pdm09を1株、また、RSウイルスは3株を遺伝子検査により検出した。

培養細胞法によるウイルスの検査体制はほぼ確立されているが、被検患者から採取した検体中に活性のあるウイルスが存在していることが必須条件となり、採取後の温度や期間等の保管条件によっては失活し検出できなくなる。また、分離困難なウイルスも存在するといった欠点がある。

感染症発生動向調査においても、迅速な実験室診断が要請される傾向は年々ますます強まっており、検出率と迅速性の向上を目指して、培養細胞法と並行して可能な限り新

たな検査技術の導入を図る必要がある。

4 まとめ

(1) 京都市感染症発生動向調査事業における病原体検査（定点医療機関分）では、受付患者 84 名のうち 34 名 (40.5%) から病原体を検出した。ウイルスでは、被検患者 83 名中 17 名 (20.5%) から、エコー、コクサッキーA 群・B 群、アデノ、ノロ、RS、インフルエンザのウイルス 11 種類 18 株を検出した。細菌では、被検患者 52 名中 17 名 (32.7%) から、黄色ブドウ球菌、下痢原性大腸菌及びサルモネラ菌の細菌 17 株を検出した。

(2) 感染症別病原体の検出率は、疾病の種類により異なり、咽頭結膜熱が 71.4、インフルエンザ及び手足口病が各 50.0%、RS ウイルス感染症が 42.9%、感染性胃腸炎が 40.8%、感染性髄膜炎が 33.3%、ヘルパンギーナが 27.3%であった。

(3) 年齢階層別病原体検出状況では、10～14 歳及び 15 歳以上が 100.0%で最も検出率が高いが、共に患者数は 1 名ずつであった。次いで 5～9 歳の 46.7%、1～4 歳の 40.0%、0 歳の 29.4%であった。受付患者数では、1～4 歳が 50 名 (59.5%) と最も多かった。

表 1 月別病原体検出状況（小児科、インフルエンザ、眼科、基幹定点）令和5年1月～12月

検体採取月		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計		病 原 体 検 出 比 率 （ % ）	
総受付患者数		1	1	6	4	13	7	13	12	4	6	4	13	84			
検 査 材 料	ふん便	1	1	6	2	6	3	9	8	2	2	4	11	55			
	鼻咽頭ぬぐい液	0	0	0	2	7	1	4	4	4	4	0	2	28			
	髄液	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	4			
	咽頭うがい液	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	3			
	その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1			
眼結膜ぬぐい液		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1			
病原体検出患者数		0	0	4	2	6	4	3	4	2	3	4	2	34			
患者当たりの検出率(%)		0.0	0.0	66.7	50.0	46.2	57.1	23.1	33.3	50.0	50.0	100.0	15.4	40.5			
被検患者数		1	1	6	4	13	7	13	11	4	6	4	13	83			
検出患者数		0	0	0	1	4	3	1	3	2	2	0	1	17			
患者当たりの検出率(%)		0.0	0.0	0.0	25.0	30.8	42.9	7.7	27.3	50.0	33.3	0.0	7.7	20.5			
ウ イ ル ス		エコー11型							1					1		2.9	
		コクサッキーA2型					1								1		2.9
		コクサッキーA4型					1								2		5.7
		コクサッキーA8型						1							1		2.9
		コクサッキーA9型										1			1		2.9
		コクサッキーA10型										1			1		2.9
コクサッキーB5型 <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>1</td> <td>1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td colspan="2">2</td> <td>5.7</td>								1	1					2		5.7	
アデノ1型 <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>1</td> <td colspan="2">1</td> <td>2.9</td>													1	1		2.9	
ノロウイルスGI型 <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>1</td> <td>1</td> <td>1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td colspan="2">3</td> <td>8.6</td>							1	1	1					3		8.6	
RSウイルス <td></td> <td></td> <td></td> <td>1</td> <td>3</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td colspan="2">4</td> <td>11.4</td>					1	3								4		11.4	
インフル <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td colspan="2">1</td> <td>2.9</td>										1				1		2.9	
インフルエンザAH1pdm09型 <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td colspan="2">1</td> <td>2.9</td>														1		2.9	
小 計		0	0	0	2	4	3	1	3	2	2	0	1	18		51.4	
被検患者数		1	1	6	2	5	3	8	9	1	2	4	10	52		細 菌	
検出患者数		0	0	4	1	2	1	2	1	0	1	4	1	17			
患者当たりの検出率(%)		0.0	0.0	66.7	50.0	40.0	33.3	25.0	11.1	0.0	50.0	100.0	10.0	32.7			
黄色ブドウ球菌 <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td colspan="2">1</td> <td>2.9</td>						1								1		2.9	
サルモネラ <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td colspan="2">1</td> <td>2.9</td>									1					1		2.9	
下痢原性大腸菌 <td></td> <td></td> <td>4</td> <td>1</td> <td>1</td> <td>1</td> <td>2</td> <td></td> <td></td> <td>1</td> <td>4</td> <td>1</td> <td colspan="2">15</td> <td>42.9</td>				4	1	1	1	2			1	4	1	15		42.9	
小 計		0	0	4	1	2	1	2	1	0	1	4	1	17		48.6	
合 計		0	0	4	3	6	4	3	4	2	3	4	2	35		100.0	

表2 感染症別病原体検出状況（小児科、インフルエンザ、眼科、基幹定点）

令和5年1月～12月

疾病名		感染性胃腸炎	インフルエンザ	ヘルパンギーナ	咽頭結膜熱	手足口病	感染性髄膜炎	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	流行性角結膜炎	流行性耳下腺炎	RSウイルス感染症	その他	計（重複有）	計（重複無）	病原体検出比率（％）
総受付患者数		49	2	11	7	2	6	1	1	0	7	1	87	84	
検査材料	ふん便	49	0	2	1	0	3	0	0	0	0	0	55	55	
	鼻咽頭ぬぐい液	1	2	7	5	2	4	0	1	0	6	1	29	28	
	髄液	0	0	2	0	0	3	0	0	0	0	0	5	4	
	咽頭うがい液	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	3	3	
	その他	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
	眼結膜ぬぐい液	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	2	1	
病原体検出患者数		20	1	3	5	1	2	0	0	0	3	0	35	34	
患者当たりの検出率(%)		40.8	50.0	27.3	71.4	50.0	33.3	0.0	0.0	0.0	42.9	0.0	40.2	40.5	
ウイルス	被検患者数	49	2	11	7	2	6	0	1	0	7	1	86	83	
	検出患者数	3	1	3	5	1	2	0	0	0	3	0	18	17	
	患者当たりの検出率(%)	6.1	50.0	27.3	71.4	50.0	33.3	0.0	0.0	0.0	42.9	0.0	20.9	20.5	
	エンテロ	エコー11型					1						1	1	2.9
		コクサッキーA2型		1									1	1	2.9
		コクサッキーA4型		1	1								2	2	5.7
		コクサッキーA8型		1									1	1	2.9
		コクサッキーA9型			1								1	1	2.9
		コクサッキーA10型				1							1	1	2.9
		コクサッキーB5型			1		1						2	2	5.7
	アデノ	アデノ1型			1								1	1	2.9
	ノロウイルスGII型		3										3	3	8.6
	RSウイルス				1						3		4	4	11.4
	インフル	インフルエンザAH1pdm09型		1									1	1	2.9
	小 計		3	1	3	5	1	2	0	0	3	0	18	18	51.4
細菌	被検患者数	48	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	52	52	
	検出患者数	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	17	
	患者当たりの検出率(%)	35.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	32.7	32.7	
	黄色ブドウ球菌		1										1	1	2.9
	サルモネラ		1										1	1	2.9
	下痢原性大腸菌		15										15	15	42.9
	小 計		17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	17	48.6
合 計		20	1	3	5	1	2	0	0	0	3	0	35	35	100.0

表3 年齢階層別病原体検出状況（小児科、インフルエンザ、眼科、基幹定点） 令和5年1月～12月

年齢		0歳	1~4歳	5~9歳	10~14歳	15歳以上	計		病原体検出比率 (%)	
総受付患者数		17	50	15	1	1	84			
検査材料	ふん便	10	32	12	1	0	55	92		
	鼻咽頭ぬぐい液	9	18	0	0	1	28			
	髄液	2	1	1	0	0	4			
	咽頭うがい液	1	0	2	0	0	3			
	その他	0	1	0	0	0	1			
	眼結膜ぬぐい液	0	1	0	0	0	1			
病原体検出患者数		5	20	7	1	1	34			
患者当たりの検出率(%)		29.4	40.0	46.7	100.0	100.0	40.5			
ウイルス	被検患者数		17	50	14	1	1	83		
	検出患者数		4	9	2	1	1	17		
	患者当たりの検出率(%)		23.5	18.0	14.3	100.0	100.0	20.5		
	エンテロ	エコー11型		1					1	2.9
		コクサッキーA2型			1				1	2.9
		コクサッキーA4型			1	1			2	5.7
		コクサッキーA8型			1				1	2.9
		コクサッキーA9型		1					1	2.9
		コクサッキーA10型			1				1	2.9
		コクサッキーB5型		1	1				2	5.7
	アデノ	アデノ1型			1				1	2.9
	ノロウイルスGI型			1	1	1			3	8.6
	RSウイルス		1	3					4	11.4
	インフル	インフルエンザAH1pdm09型					1		1	2.9
	小 計		4	10	2	1	1	18		51.4
細菌	被検患者数		8	30	14	0	0	52		
	検出患者数		1	11	5	0	0	17		
	患者当たりの検出率(%)		12.5	36.7	35.7	0.0	0.0	32.7		
	黄色ブドウ球菌		1					1		2.9
	サルモネラ				1			1		2.9
	下痢原性大腸菌			11	4			15		42.9
	小 計		1	11	5	0	0	17		48.6
合 計		5	21	7	1	1	35		100.0	

表 4 検出方法別病原ウイルス検出状況

令和 5 年 1 月～12 月

		検体の種類			検出 件数	培養細胞				イムノ クロマト	遺伝子 検査
		ふん便	鼻咽頭 ぬぐい液	髄液		FL	RD-18S	Vero	MDCK		
エンデロ	エコー11型	1	1		2		2				1
	コクサッキーA2型		1		1						1
	コクサッキーA4型		1	1	2		1				1
	コクサッキーA8型		1		1						1
	コクサッキーA9型		1		1						1
	コクサッキーA10型		1		1						1
	コクサッキーB5型	1	2		3						3
	アデノ		1		1					1	1
ノロウイルスGII型		3			3						3
インフル エンザ	インフルエンザ AH1pdm09型		1		1						1
RSウイルス			3		3						3
合 計		5	13	0	1	0	3	0	0	1	17

機械学習による京都市の光化学オキシダント濃度の予測モデルの構築

Construction of models to forecast concentrations of photochemical oxidant in Kyoto city by machine learning

伴 創一郎*

Soichiro BAN

Abstract

In this study, we constructed the two kinds of forecasting models to predict photochemical oxidant (Ox) concentrations in Kyoto city. These are regression models to forecast the daily maximum Ox concentration from the data of 8 features at 10 o'clock and time series forecasting models to forecast the next 6-hour Ox concentration from the previous 120-hour data of 13 features. The data used to construct the models were hourly data gathered at Fushimi ambient air monitoring stations in Kyoto city from January 1, 2020 to October 31, 2023. The coefficient of determination (R^2), the mean absolute error (MAE) and the root mean square error (RMSE) of the test datasets were used to evaluate the performance of each model.

With regard to regression models, we explored the applicability of four different machine learning algorithms, namely linear regression (LR), random forest (RF), support vector machine (SVM), and deep neural network (DNN). The SVM model ($R^2 = 0.654$, MAE = 7.26 ppb, RMSE = 9.85 ppb) slightly outperformed the RF model ($R^2 = 0.644$, MAE = 7.27 ppb, RMSE = 9.97 ppb), followed by the LR model ($R^2 = 0.613$, MAE = 7.73 ppb, RMSE = 10.42 ppb), and the DNN model ($R^2 = 0.604$, MAE = 7.98 ppb, RMSE = 10.97 ppb).

With regard to time series forecasting models, we explored the applicability of three different machine learning algorithms, namely Long Short-Term Memory (LSTM), Gated Recurrent Unit (GRU), and Auto-Regressive Long Short-Term Memory (ARLSTM). ARLSTM models ($R^2 = 0.859$, MAE = 5.85 ppb, RMSE = 8.15 ppb) outperformed GRU models ($R^2 = 0.846$, MAE = 6.26 ppb, RMSE = 8.95 ppb), followed by LSTM models ($R^2 = 0.834$, MAE = 6.31 ppb, RMSE = 8.74 ppb). Some discrepancies were observed between the forecasted values and the observed values, when the weather changed abruptly or the Ox concentration increased so abruptly that a photochemical smog advisory was issued. These results suggest that abrupt changes in time series data deteriorate forecast accuracy of the models.

Key words

photochemical oxidant/光化学オキシダント machine learning/機械学習 regression analysis/回帰分析
time series analysis/時系列解析 Deep Neural Network/ディープニューラルネットワーク LSTM/長・短期記憶

1 はじめに

光化学オキシダントは（以下「Ox」という。）、窒素酸化物（以下NO_xという）、揮発性有機化合物（以下「VOCs」という）が太陽光（紫外線）を受けて、光化学反応を起こすことにより生じる、オゾン（O₃）、パーオキシアセチルナイトレート（PAN）、アルデヒド類そのほかの酸化物質の総称であり、その大部分がオゾンである。Oxは光化学スモッグの原因物質である。

Ox濃度が高くなると、健康被害が懸念されるため、京都市では、5月から9月の光化学反応による大気汚染緊急時対策実施期間に「光化学反応による大気汚染緊急時対策要綱」に基づき、Oxによる大気汚染の常時監視等を実施している。1以上の測定地点でOx濃度の1時間平均値が0.12 ppm以上になり、気象条件から見て濃度が継続すると認められるとき、京都府知事より光化学スモッグ注意報が発令される。注意報発令時には、iFAXや電話による関係機関への周知が実施される。

現在は、当日の常時監視データや気象データを基に発令が判断されているが、Ox濃度の事前の予測が可能であれば、事前に発令の準備が可能となり、発令業務の迅速化に役立つと考えられる。

将来、精度の高い事前予測が可能となり、Ox高濃度事象の発生予測を事前に周知することができれば健康被害の防止にも寄与すると考えられる。

今回、機械学習の手法を用いて、京都市の常時監視データより、当日のOx濃度を予測するモデルを構築した。

機械学習とは人間の持つ学習能力と同じ機能をコンピューターで再現するAI技術の1つであり、データから、「機械」（コンピューター）が自動で「学習」し、データの背景にあるルールやパターンを見つけてそれに基づいて新しいデータに対する予知や判断を行う手法である。機械学習は、入力データの与え方の違いにより、「教師あり学習」、「教師なし学習」、「強化学習」に分類される。「教師あり学習」は、入力データと正解データをセットにしてコンピューターに与える手法である。「教師あり学習」は、予測する値が離散値の場合は分類問題、予測する値が連続値の場合は回帰問題の2種類に分類される。

常時監視データは連続値であるため、Ox濃度の予測モデルでは「教師あり学習」のアルゴリズムで回帰問題の機械学習を実施することとなる。今回の検討では、回帰分析モデルとして京都市の

*京都市衛生環境研究所環境部門

常時監視データの10時の1時間値からオキシダントの日最高1時間値を機械学習の回帰分析で予測するモデルを、「線形回帰」、「SVM (サポートベクトルマシン)」、「ランダムフォレスト」、「DNN (ディープニューラルネットワーク)」の4種類のアルゴリズムで構築した。

時系列データは、音声、言語、気象などデータの順序に意味があり、時間に対し規則性を示すデータのことである。時系列データの分析に用いられる代表的な手法として「再帰型ニューラルネットワーク」がある。

今回の検討では、回帰分析モデルに加えて、常時監視データを時系列データとして取り扱い解析する、時系列解析モデルの構築も行った。事前の120時間分の常時監視の13種の特徴量データより未来の6時間分の13種の特徴量を予測するモデルを「LSTM (Long Short-Term Memory)」、「GRU (Gated Recurrent Unit)」、「ARLSTM (Auto-Regressive LSTM)」の3種類の再帰型ニューラルネットワークの派生アルゴリズムで構築した。今回構築した回帰分析モデル、時系列解析モデルの各モデルについて、評価指標である平均絶対誤差 (Mean Absolute Error)、二乗平均平方根誤差 (Root Mean Squared Error) を算出し、構築した各モデルの予測性能を評価したので報告する。

2 方法

2.1 開発環境

CPU: Core i5 3550 3.3GHZ, RAM: 8.0 GB

チップセット: Intel Q77 Express

OS: Windows10 64bit

開発に使用した Python 及び Python のモジュールのバージョンは以下のとおりである。

Python (3.11.6)

numpy (1.26.1), pandas (2.1.2), scikit-learn (1.3.2)

tensorflow (2.14.0), tf.keras (2.14.0)

matplotlib (3.8.1), seaborn (0.13.0)

2.2 解析対象局及び解析対象データ

解析対象の測定局は、京都市内の一般環境大気測定局のうち、日射量、温度、風向風速の気象データの測定を実施している伏見局とした。

解析対象のデータは、伏見局で2020年1月1日1時から2023年10月31日24時までに測定された1時間値とした。対象項目としては、「O_x 濃度 (ppb (v/v)) ([O_x] と表す)」、「NO_x 濃度 (ppb (v/v)) ([NO_x] と表す)」、「SPM 濃度 (0.001 mg/m³) ([SPM] と表す)」、「風速 (0.1 m/s)」、「風向」、「気温 (0.1℃) ([TEMP] と表す)」、「湿度 (0.1%) ([HUM] と表す)」、「日射 (0.01 MJ/m²) ([SR] と表す)」の1時間値とした。また、O_x の NO による分解を補正した指標で

ある「ポテンシャルオゾン濃度 (ppb (v/v)) ([PO] と表す)」を、 $[PO] = [O_x] + [NO_2] - 0.1 \times [NO_x]$ の定義式より算出し、回帰分析の説明変数に用いることとした。([NO₂] は大気中の NO₂ 濃度 (ppb (v/v)) である。)

オキシダント濃度の「日最高1時間値」は京都市環境情報処理システム (KEIMS) の帳票出力機能により出力した。

2.3 データの前処理

機械学習を実施するにあたり、データをモデルが学習可能な、適切な形式に整えるため、データを前処理する必要がある。風向風速データ、時刻データ、欠損データについて以下の手順でデータの前処理を行った。

2.3.1 風向、風速データの処理

常時監視データでは、16方位の風向データと風速データが出力されている。機械学習での学習のため、風向、風速データを東西方向、南北方向のベクトルに変換した。風向データを rad 単位に変換し、三角関数により風速、風速データを東西方向のベクトル成分 (WScos (0.1 m/s) ([WScos] と表す)、南北方向のベクトル成分 (WSsin (0.1 m/s) ([WSsin] と表す)) に分解して、機械学習の特徴量データとした。¹⁾

2.3.2 時刻データの処理

時系列解析モデルでは、常時監視データの日単位、年単位の周期性を取り入れるため、時刻データも解析に使用した。常時監視の時刻データを Python の datetime ライブラリで秒に変換し、変換後のデータを三角関数の正弦変換で sin 信号 Day sin、Year sin に、余弦変換で cos 信号 Day cos、Year cos に変換し、時系列解析モデルの特徴量データとした。²⁾

2.3.3 欠損データの処理

解析対象データには測定機器の不具合、点検などの要因により欠測となった欠損値を含むデータが存在している。欠損値がある状態では機械学習の学習や分析ができないため、欠損データを適切に処理する必要がある。

今回の解析では、回帰分析用のデータについては、欠損値を含む時間の1時間値データを pandas モジュールの dropna メソッドを用いて削除して、学習用データとした。時系列解析用のデータについては pandas モジュールの fillna メソッドの forward fill により、欠損値の1つ前の1時間値のデータを用いて穴埋めして、学習用データとした。

2.3.4 データセットの作成

回帰分析用データでは、欠損値処理後のデータから、10時の1

時間値を抽出して全 1388 個のデータセットを作成し、モデルの学習に使用した。回帰分析用データセットの統計値を表 1 に示す。

時系列解析用のデータでは、欠損値処理後の全日のデータを解析対象とし、2020 年 1 月から 2023 年 10 月までの全 33600 個のデータセットを作成し、モデルの学習に使用した。時系列解析用データセットの統計値を表 2 に示す。

2.3.5 データの分割

教師あり学習でモデルの訓練を行う場合、データセットを学習に使用するデータ（訓練データ）と正解率の評価に使用するデータ（テストデータ）に分割して評価する。回帰分析用データについては、訓練データとテストデータセットを 80:20 の割合でランダムに分割して学習に用いた。時系列解析用データについては、訓練データ、検証データ、テストデータを 70:20:10 に時系列順に分割して学習に用いた。なお、検証データは、モデルが訓練時にパラメーターを調整して性能を向上させるためのデータである。

2.3.6 データのスケーリング

機械学習のモデルの訓練では、各説明変数間で値が大きく異なる場合、重みづけが不均衡に働き、影響度が上手く評価できず、モデルの精度が下がる恐れがあるため、「標準化」と「正規化」といったデータのスケーリングを行う。標準化 (Standardization) は平均を 0、分散を 1 とするスケーリング手法であり、正規化 (Normalization) は最小値を 0、最大値を 1 とするスケーリング手法である。

回帰分析用のデータについては、scikit-learn の StandardScaler を使用して標準化した。n 個のデータからなる訓練データセットの各訓練データ値 x_i ($i = 1, \dots, n$) は、標準化された x_i の値を z_i 、訓練データセットの平均を μ 、標準偏差を σ として、 $z_i = (x_i - \mu) / \sigma$

($i = 1, \dots, n$) の式にて標準化される。標準化した回帰分析用データセットのデータ分布を図 1 に示す。

時系列解析用データについては、scikit-learn の MaxMinScaler を使用して正規化した。n 個のデータからなる訓練データセットの各訓練データ値 x_i ($i = 1, \dots, n$) は、正規化された x_i の値を x_{norm_i} 、訓練データセットの最大値を x_{max} 、最小値を x_{min} として、 $x_{\text{norm}_i} = (x_i - x_{\text{min}}) / (x_{\text{max}} - x_{\text{min}})$ ($i = 1, \dots, n$) の式にて正規化される。正規化した時系列解析用データセットのデータ分布を図 2 に示す。

3 結果及び考察

3.1 回帰分析モデルの構築

回帰分析は、1 つ以上の特徴量の説明変数を用いて連続値の目的変数を予測する分析手法である。特徴量とは、注目しているデータの特徴を数値で示したものである。説明変数は、結果の要因となる数値であり、目的変数は、予測したい結果の数値である。

表 1 回帰分析モデル用データセットの統計値

	count	mean	std	min	25%	50%	75%	max
Ox_max [ppb]	1388	47.93	16.60	4	37	45	57	116
Ox [ppb]	1388	27.99	13.96	1	17	28	38	75
PO [ppb]	1388	37.86	11.51	1	30.2	37.65	45.4	83.9
WScos [0.1m/s]	1388	1.31	12.99	-48.042	-6.506	2E-15	7.654	54
WSsin [0.1m/s]	1388	4.12	16.48	-65.595	-6.467	6.506	14.782	72.063
TEMP[0.1℃]	1388	182.35	90.42	-6	105	185	260	342
HUM[0.1%]	1388	663.28	130.88	149	585	656.5	732	999
SR[0.01MJ/m ²]	1388	152.21	79.04	0	89	149	218	310
NOx [ppb]	1388	17.97	17.22	1	7	12	22	114
SPM[0.001mg/m ³]	1388	14.86	8.58	0	9	13	19	65

表 2 時系列解析モデル用データセットの統計値

	count	mean	std	min	25%	50%	75%	max
WS cos [0.1m/s]	33600	1.65	13.34	-60.05	-5.74	0.00	7.65	76.00
WS sin [0.1m/s]	33600	2.07	17.26	-79.45	-8.00	3.06	12.93	82.23
HUM[0.1%]	33600	680.90	169.30	0	571	695	805	1000
SR [0.01MJ/m ²]	33600	58.06	88.75	0	0.00	1.00	93	390
TEMP[0.1℃]	33600	175.30	91.39	-35	98	178	253	390
NOx[ppb]	33600	12.99	12.65	0	5	9	16	137
SPM[0.001mg/m ³]	33600	13.89	8.89	0	8	12	18	131
Day sin	33600	0.00	0.71	-1.00	-0.71	0.00	0.71	1.00
Day cos	33600	0.00	0.71	-1.00	-0.71	0.00	0.71	1.00
Year sin	33600	0.02	0.71	-1.00	-0.71	0.07	0.73	1.00
Year cos	33600	-0.04	0.70	-1.00	-0.73	-0.07	0.65	1.00
PO [ppb]	33600	38.27	14.94	0.0	28.30	37.60	46.50	126.60
Ox [ppb]	33600	29.21	17.30	0	15	30	41	116

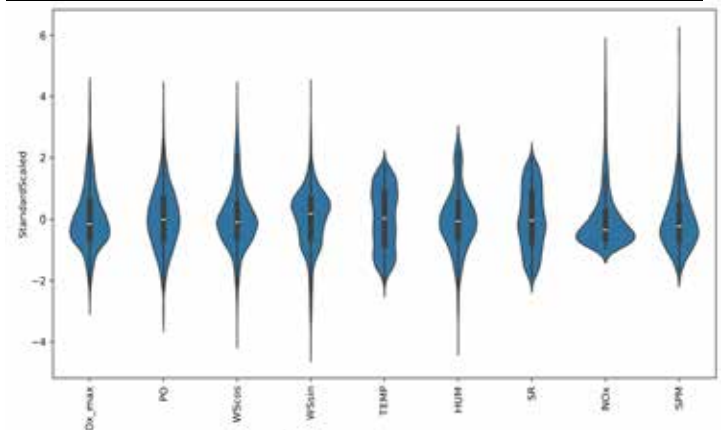


図 1 回帰分析モデルの標準化した特徴量の分布

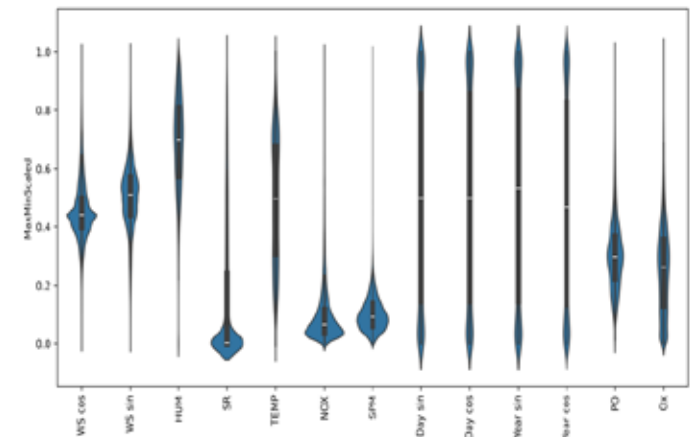


図 2 時系列解析モデルの正規化した特徴量の分布

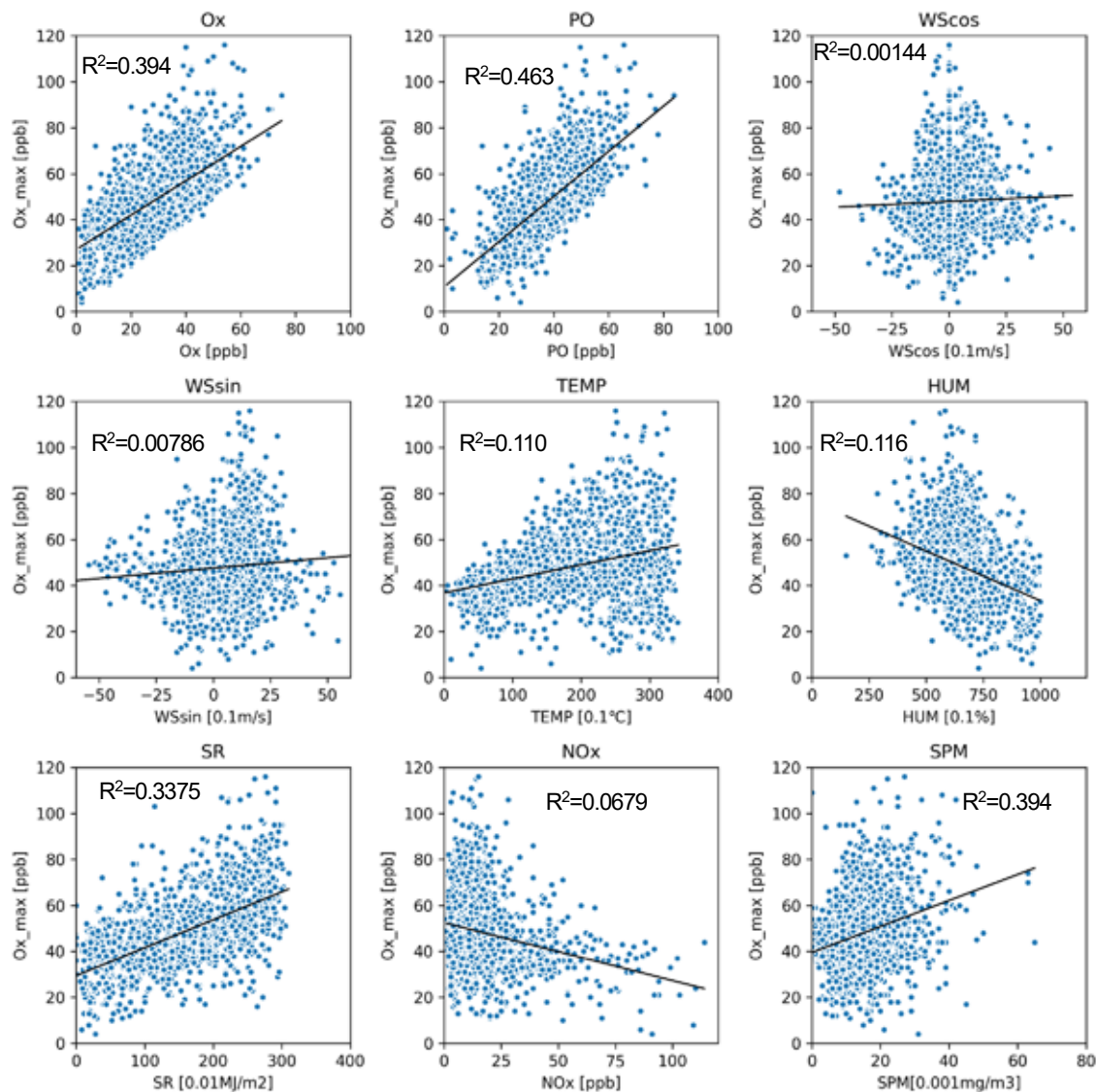


図3 光化学オキシダントの日最高1時間値と特徴量の10時の1時間値の散布図プロット

今回、回帰分析モデルとして、常時監視データの10時の1時間値より当日のオキシダント濃度の日最高1時間値を機械学習で予測するモデルを構築した。

3.1.1 目的変数の設定

回帰分析モデルの目的変数として、当日の24時間中のオキシダント濃度の最高値を、「オキシダント濃度の日最高1時間値 (ppb (v/v)) ([Ox_max] と表す)」として設定した。

3.1.2 説明変数の設定

回帰分析モデルの構築には、適切な特徴量の説明変数を選定する必要がある。通常の常時監視データに加え、OxのNOによる分解を補正した指標である「ポテンシャルオゾン濃度 (ppb)」([PO]と表す。)についても説明変数とする特徴量の候補として検討した。

目的変数 [Ox_max] と各特徴量の関係を把握するため、目的変数 [Ox_max] と各特徴量 [Ox]、[PO]、[WScos]、[WSsin]、

[TEMP]、[HUM]、[SR]、[NOx]、[SPM] の10時の1時間値データ間の散布図を作成した(図3)。目的変数と各特徴量データ間の相関を計算し、作成した相関係数行列のヒートマップを図4に示す。目的変数 [Ox_max] と0.5以上の強い相関があった特徴量は [Ox]、[PO]、[SR] であった。[PO] と [Ox_max] の相関係数は0.68であり、[Ox] と [Ox_max] の相関係数0.63より大きかった。また、[PO] と [Ox] の相関係数は0.88であり互いに強い相関があった。重回帰分析では、互いの相関が強い特徴量を同時に説明変数に選定すると予測がうまくいなくなる多重共線性の問題が懸念されるため、[Ox_max] との相関がより強かった [PO] を説明変数として選定した。

今回の検討では、[Ox_max] を目的変数とし、[PO]、[WScos]、[WSsin]、[TEMP]、[HUM]、[SR]、[NOx]、[SPM] の8種類の特徴量の10時の1時間値を説明変数とする回帰分析モデルをPythonの機械学習ライブラリ scikit-learn を用いて構築した。

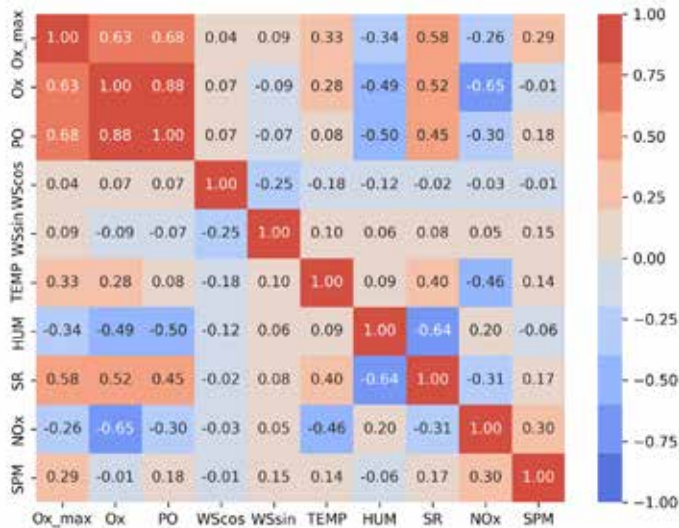


図4 回帰分析モデルの特徴量の相関係数行列のヒートマップ

3.1.3 モデルの性能の評価指標

真の値と予測値の差の絶対値の平均である平均絶対誤差 (MAE: Mean Absolute Error)、真の値と予測値の差の2乗の平均の平方根、二乗平均平方根誤差 (RMSE: Root Mean Squared Error) を算出し、構築したモデルの予測精度の評価指標として用いた。

モデルの学習は標準化したスケールの訓練データで行われるため、予測値も標準化したスケールで出力される。scikit-learn の `scaler.inverse_transform` 関数を用いて、予測値をもとのスケールに戻した後、実測値と比較した。また、MAE、RMSE の算出を実施しモデルの性能評価を行った。

3.1.4 線形回帰モデルの検討

線形回帰モデルは、目的変数が説明変数の線形和で表されると仮定したモデルである。目的変数を y 、説明変数を x_i としたとき、 $y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_n x_n$ (β_i ($i = 1, \dots, n$) は偏回帰係数、 β_0 は定数項) の形式で表される。最小二乗法では、予測値と実測値の残差二乗和が最小となるように、係数の重みが調整される (図5)。scikit-learn の線形回帰用ライブラリ `LinearRegression` を使用して、訓練データをモデルに学習させた。

学習済みの線形回帰モデルの重回帰式の標準偏回帰係数を図6に示す。目的変数 $[Ox_max]$ への影響度は、 $[PO]$ 、 $[SR]$ 、 $[HUM]$ 、 $[TEMP]$ 、 $[SPM]$ 、 $[WScsin]$ 、 $[WScos]$ 、 $[NOx]$ の順に大きかった。

学習済みの線形回帰モデルの `predict` メソッドにより、訓練データおよびテストデータの日最高1時間値 $[Ox_max]$ の予測値を出力した。Ox 日最高1時間値の実測値を横軸に、訓練データとテストデータの線形回帰モデルの予測値を縦軸にプロットした散布図を図7(a)に示す。線形回帰モデルの訓練データとテストデータの予測値を横軸に、実測値と予測値の差(残差)を縦軸にプロットした残差プロットを図7(e)に示す。線形回帰モデルの訓練データの MAE は 7.66、RMSE は 10.18 であった。テストデータの MAE は 7.73、RMSE は 10.42 であった。

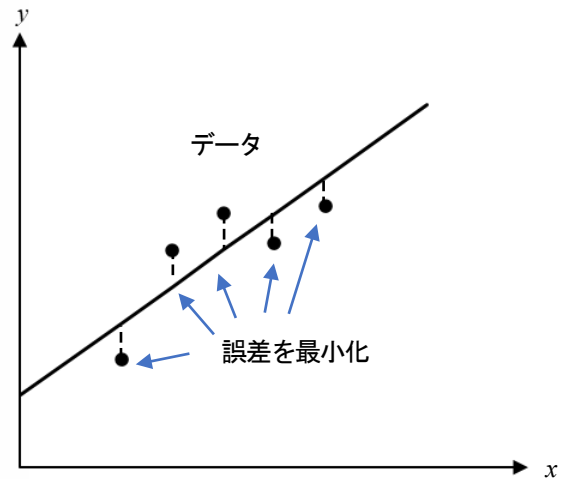


図5 線形回帰モデルの概要

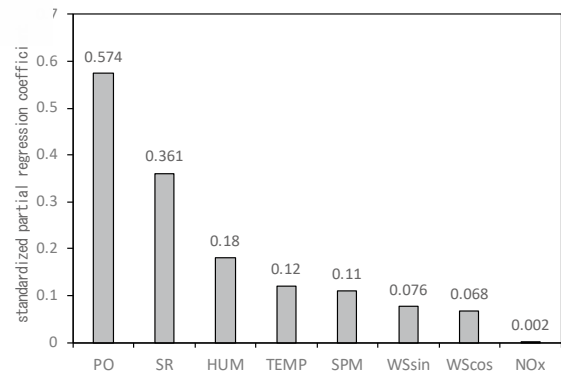


図6 線形回帰モデルの重回帰式の標準偏回帰係数

3.1.5 SVM (サポートベクトルマシン) による回帰モデルの検討

SVM (サポートベクトルマシン) は、回帰と分類の両方に使用される汎用的なアルゴリズムである。SVM では、データを分類するための境界線とデータの最短距離をマージンとし、マージンを最大化することで、値を分類するのに良い決定境界線を求める (図8)。SVM には、決定境界が線形の線形 SVM と決定境界が非線形のカーネル法の SVM がある。今回は、カーネル関数に動径基底関数 (RBF) を用いた、カーネル法の SVM による回帰分析モデルを検討した。SVM による回帰分析では、学習前にハイパーパラメーターとして 正則化係数 C 、不感度係数 ϵ 、RBF カーネルのパラメーター γ ($\gamma = 1/2\sigma^2$ (σ は標準偏差)) を適切に設定する必要がある。訓練データを使用し、モデルのグリッドサーチを実行し最適なパラメーターを探索した結果、ハイパーパラメーターの設定を ($\text{kernel}=\text{rbf}$, $C=1.0$, $\epsilon=0.1$, $\gamma=0.1$) として学習を実行することとした。

scikit-learn の SVM 回帰用ライブラリ `SVR` を使用して、訓練データをモデルに学習させた。学習済みの SVM モデルの `predict` メソッドより、訓練データとテストデータの Ox 日最高1時間値の予測値を出力した。日最高1時間値の実測値を横軸に、訓練データとテストデータの予測値を縦軸にプロットした散布図を図7(b)に示す。SVM モデルの訓練データとテストデータの予測値を横軸に、実測値と予測値の差(残差)を縦軸にプロットした残差プロ

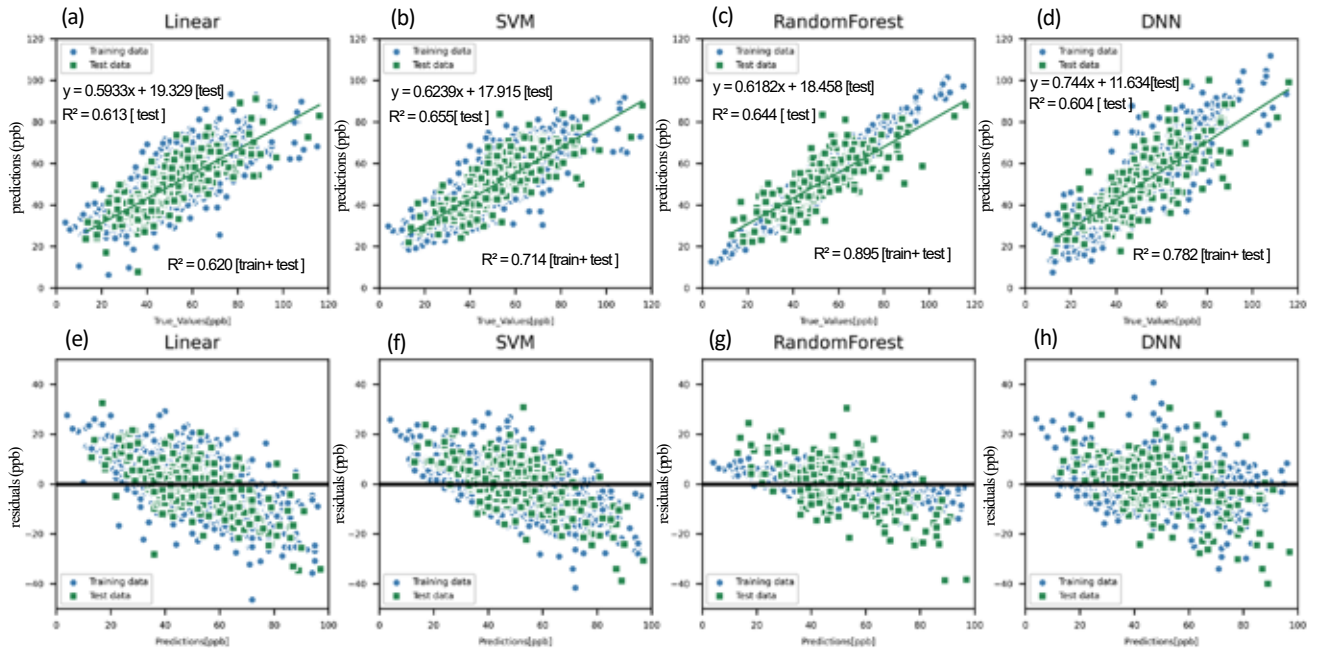


図7 回帰分析モデルにおける、0x 日最高1 時間値実測値と予測値の散布図 ((a)～(d)) と残差 (実測値と予測値の差) プロット ((e)～(h))

ットを図7(f) に示す。SVM モデルの訓練データのMAEは6.05、RMSEは8.69であった。テストデータのMAEは7.26、RMSEは、9.85であった。

3.1.6 ランダムフォレスト回帰モデルの検討

ランダムフォレストは、回帰と分類の両方に使用される汎用的なアルゴリズムである。決定木とは、不純度の減少が最大となるように条件分岐を繰り返し、データの分類を行う手法である。決定木をアンサンブル学習 (バギング) と組み合わせた手法をランダムフォレストという (図9)。ランダムフォレストは、データの前処理が少なく済む、特徴量の重要度を可視化することができる、事前に設定が必要なハイパーパラメーターがSVMより少ないという特徴を持つ。

ランダムフォレストのハイパーパラメーターを ($n_estimators=1000, n_jobs=-1, random_state=0$) と設定し、scikit-learnのランダムフォレスト回帰用ライブラリ RandomForestRegressor を使用して、訓練データをモデルに学習させた。

学習済みのランダムフォレスト回帰モデルから算出した、特徴量の重要度 (Feature Importance) を図10に示す。特徴量の重要度は、[PO]、[SR]、[TEMP]、[WScores]、[HUM]、[WSsin]、[SPM]、[NO_x] の順に大きかった。

学習済みのランダムフォレスト回帰モデルのpredictメソッドより、訓練データとテストデータの0x 日最高1 時間値の予測値を出力した。0x 日最高1 時間値の実測値を横軸に、訓練データとテストデータの予測値を縦軸にプロットした散布図を図7(c)に示す。また、ランダムフォレスト回帰モデルの訓練データとテストデータの予測値を横軸に、実測値と予測値の差 (残差) を縦軸に

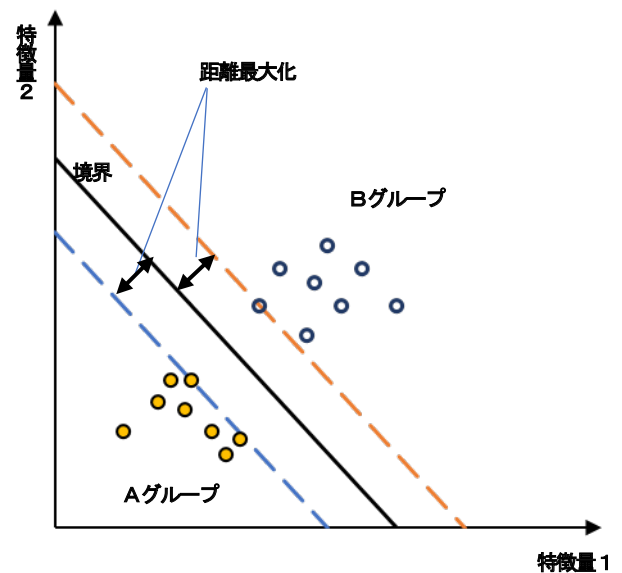


図8 サポートベクトルマシンの概要

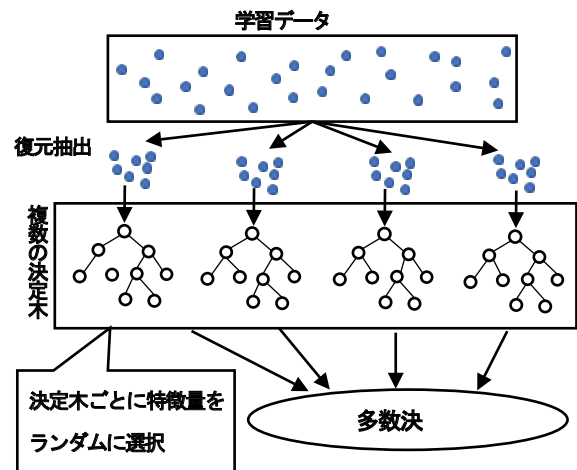


図9 ランダムフォレストの概要

プロットした残差プロットを図7(g)に示す。

ランダムフォレスト回帰モデルの訓練データのMAEは2.73、RMSEは3.67であった。テストデータのMAEは7.27、RMSEは9.97であった。

3.1.7 DNN（ディープニューラルネットワーク）回帰モデルの検討

ニューラルネットワークは、動物の神経回路を模倣した学習モデルの総称であり、回帰、分類の両方に使用される。ニューラルネットワークは入力層、中間層（隠れ層）、出力層で構成される（図11）。入力データを受け取る層が入力層、予測結果を返す層が出力層である。入力層と出力層には含まれたその他の層を中間層（隠れ層）と呼ぶ。隠れ層を多層化したニューラルネットワークはディープニューラルネットワーク（DNN）と呼ばれている。ニューラルネットワークの最小単位は人工ニューロンである（図12）。ニューラルネットワークの学習では、ニューロン間の結合の強さを表すパラメーター、重み（Weight）とバイアス（Bias）を誤差（予測値と実測値の差）が最小化するように最適化する。今回は、機械学習ライブラリTensorflow上で動作するニューラルネットワークライブラリkerasを用いて、ニューロン数8の入力層、ニューロン数256の中間層1、ニューロン数256の中間層2、ニューロン数1の出力層からなる、2層の中間層を持つDNNモデルを構築した。構築したDNN回帰分析モデルを表3に示す。損失関数をMAE（平均二乗誤差）、活性化関数をReLU関数、optimizerをAdam、エポック数を100とした設定でDNN回帰モデルによる訓練データの学習を実施した。

学習済みのDNN回帰モデルのpredictメソッドより、訓練データとテストデータのOx日最高1時間値の予測値を出力した。

Ox日最高1時間値の実測値を横軸に訓練データとテストデータの予測値を縦軸にプロットした散布図を図7(d)に示す。DNN回帰モデルの訓練データとテストデータの予測値を横軸に、実測値と予測値の差（残差）を縦軸にプロットした残差プロットを図7(h)に示す。DNN回帰モデルの訓練データのMAEは4.70、RMSEは7.12であった。テストデータのMAEは7.98、RMSEは10.97であった。

3.1.8 回帰分析モデルの性能評価結果のまとめ

今回構築した各モデルの訓練データとテストデータのMAE（平均絶対誤差）の計算結果を図12に、RMSE（二乗平均平方根誤差）の計算結果を図13に示す。訓練データのMAE、RMSEは、ランダムフォレスト、DNN、SVM、線形回帰モデルの順に小さい値であった。テストデータのMAE、RMSEは、SVM、ランダムフォレスト、線形、DNN回帰モデルの順に値が小さかった。予測精度は、テストデータのMAE、RMSEが小さいほうが高いため、SVM、

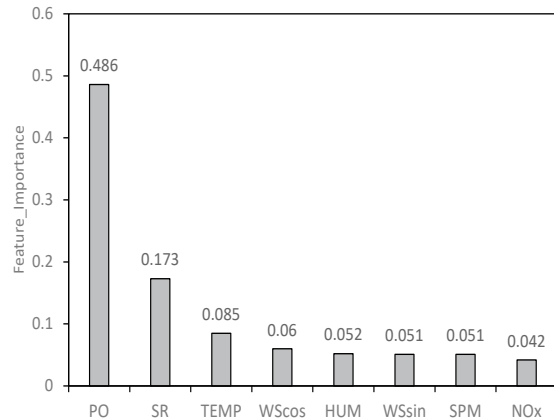


図10 ランダムフォレスト回帰の特徴量の重要度

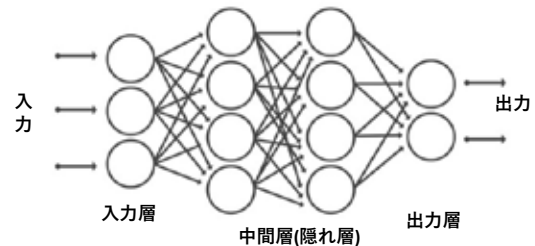


図11 ニューラルネットワークの概要

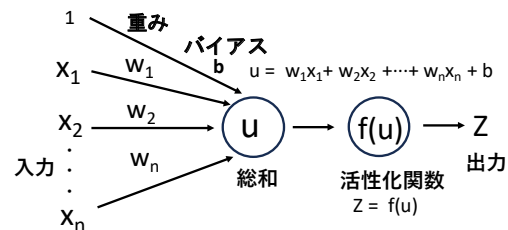


図12 人工ニューロンの概要

表3 DNNによる回帰分析モデルのSummary

Model: "sequential"		
Layer (type)	Output Shape	Param #
dense (Dense)	(None, 256)	2304
layer_normalization (Layer Normalization)	(None, 256)	512
dropout (Dropout)	(None, 256)	0
dense_1 (Dense)	(None, 256)	65792
dense_2 (Dense)	(None, 1)	257

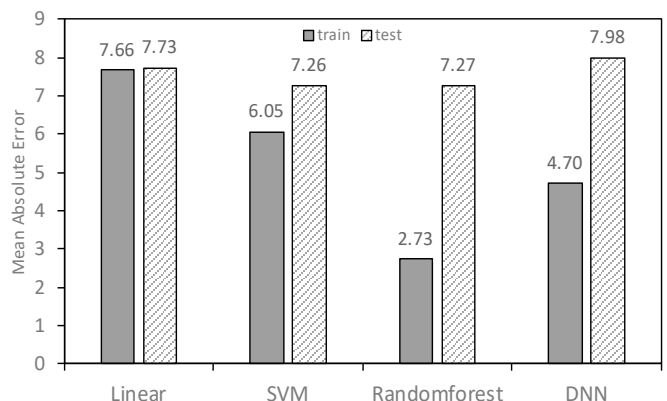


図12 構築した回帰分析モデルの平均絶対誤差 (MAE)

ランダムフォレスト、線形、DNN 回帰モデルの順に予測精度が高い結果となった。実測値とテストデータの予測値間の決定係数 R^2 は、値が大きい順に SVM モデル (0.655)、ランダムフォレスト回帰モデル (0.644)、線形回帰モデル (0.613)、DNN 回帰モデル (0.604) であった。実測値を横軸に、予測値を縦軸にとってプロットした図および、実測値とテストデータの予測値間の回帰直線を図7の (a) ~ (d) に示す。

3.2 時系列解析モデルの構築

常時監視データを時系列データとして解析し、過去の120時間分の常時監視データ実測値から未来の6時間分の値を再帰型ニューラルネットワークのアルゴリズムで予測するモデルを構築した(図14)。

3.2.1 説明変数、目的変数の設定

常時監視で測定される特徴量は、日周期、年周期の季節性の影響をうけるため、時系列解析モデルでは、日付時刻データを秒単位に変換し、正弦変換、余弦変換して出力した特徴量 [Year cos]、[Year sin]、[Day cos]、[Day sin] も説明変数に使用し、[WScos]、[WSsin]、[TEMP]、[HUM]、[SR]、[NO_x]、[SPM]、[Year cos]、[Year sin]、[Day cos]、[Day sin]、[PO]、[O_x] の計13種の特徴量を説明変数として使用した。今回は、入力で使用した13種の特徴量を目的変数として設定し、出力時間6時間分の13種の特徴量を予測するモデルとした。

3.2.2 時系列解析用データセットの作成

RNN (再帰型ニューラルネットワーク) は、内部に再帰構造をもつニューラルネットワーク (図15) の総称である。RNN の隠れ層は、入力データだけでなく、前の時間のデータの特徴を受け取ることで、過去の情報を保持できるため時系列データの解析に使用される。

RNN における時系列解析では、任意のステップ数の時系列データをモデルへの入力とし、入力に続く、一定のステップ数の値を予測値として出力する。RNN の学習では、学習のためのデータを、図16のような、任意のステップ数の連続した入力データと、それに続く一定のステップの出力データからなる形状に整形する必要がある。今回の時系列予測モデルでは、120時間分の実測値から未来の6時間を予測することとしたため、2.3.6の手順で正規化した訓練データ、検証データ、テストデータを Python の機械学習ライブラリ Tensorflow の `tf.keras.utils.timeseries_dataset_from_array` 関数を使用して `sequence_length=126`、`sequence_stride=1`、`batch_size=32` の設定で、文献^{1,2)}に記載の方法で図16の形式に整形し、RNN で学習可能な形式の訓練データセット、検証データセット、テストデータセットを作成した。

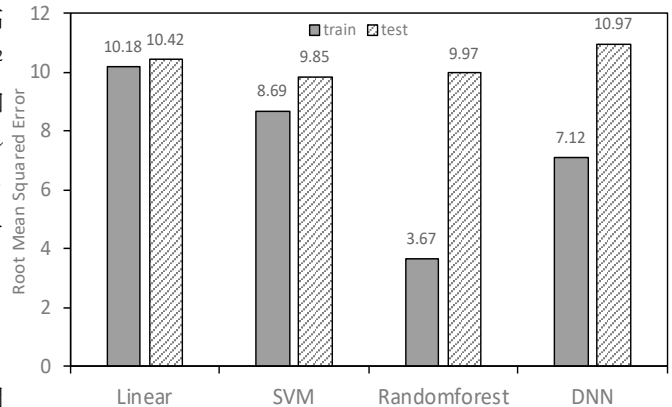


図13 構築した回帰分析モデルの二乗平均平方根誤差 (RMSE)

入力データ120時間分

出力データ6時間分

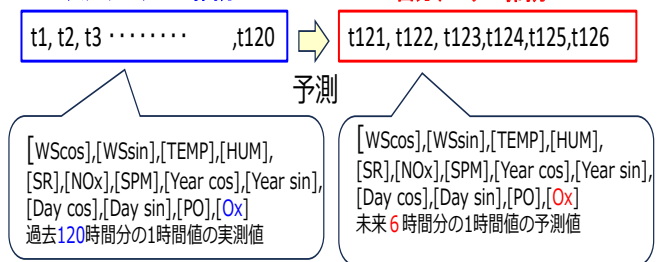


図14 構築した時系列解析モデルの概要

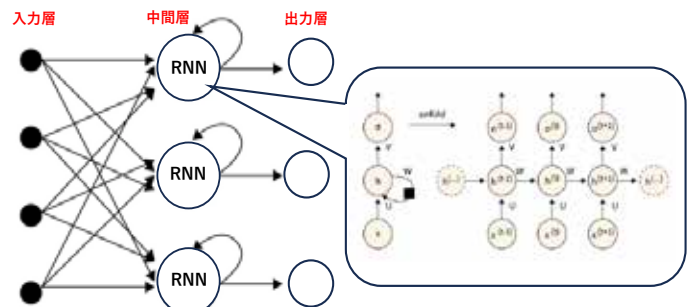


図15 RNN (再帰型ニューラルネットワーク) の概要

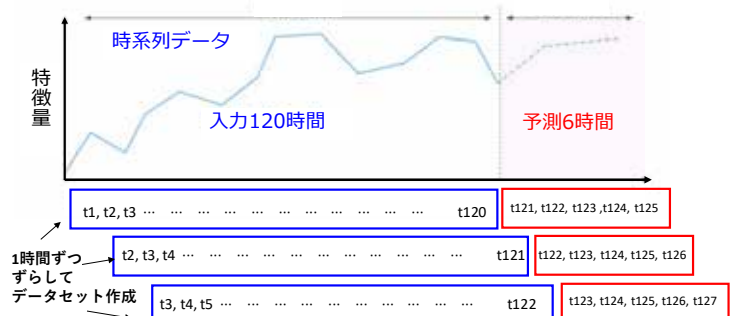


図16 RNN (再帰型ニューラルネットワーク) 学習用データの形状

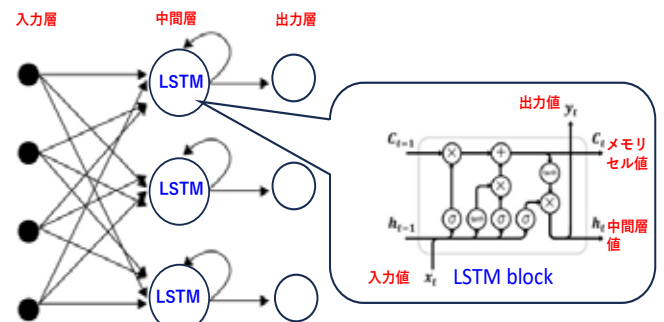


図17 LSTM (Long Short-Term Memory) モデルの概要

3.2.3 LSTMによる時系列解析モデルの構築

LSTM (Long short-Term Memory)は、勾配消失や重み衝突など RNN が持つ問題を改良し、遠い過去の入力を現在の出力に反映させることを可能にしたモデルである。LSTM は RNN の再帰構造を持つ隠れ層を LSTM ブロックで置き換えている (図 17)。LSTM ブロックは、セル (CEC) と入力ゲート、出力ゲート、忘却ゲートという 3 つのゲート機構で構成されている。

今回、Tensorflow 上で動作するニューラルネットワークライブラリ Keras を用いて、120 時間分の 13 種の特徴量を入力し、ニューロン数 32 の LSTM ユニットからなる中間層を経て未来の 6 時間分の 13 種の特徴量の出力を予測する、LSTM による時系列解析モデルを構築した。構築した LSTM による解析モデルの Summary を表 4 に示す。

表 4 LSTM による時系列解析モデルの Summary

Model: "sequential"		
Layer (type)	Output Shape	Param #
lstm (LSTM)	(None, 32)	5888
dense (Dense)	(None, 78)	2574
reshape (Reshape)	(None, 6,13)	0

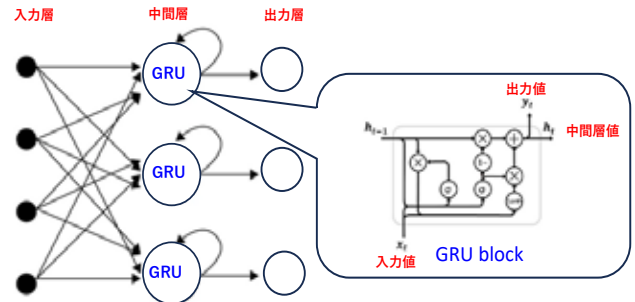


図 18 GRU (Gated Recurrent Unit) モデルの概要

3.2.4 GRU による時系列解析モデルの構築

GRU (Gated Recurrent Unit) は、LSTM を簡略化し、計算量を減少させたモデルである。GRU は RNN の隠れ層を GRU ブロックで置き換えている (図 18)。GRU ブロックは、更新ゲートとリセットゲートの 2 つのゲート機構で構成されている。GRU も LSTM と同様に長期の記憶を保持することができるモデルである。

今回、Tensorflow のニューラルネットワークライブラリ Keras を用いて、120 時間分の 13 種の特徴量を入力し、ニューロン数 32 の GRU ユニットからなる中間層を経て未来の 6 時間分の 13 種の特徴量の出力を予測するモデルを構築した。構築した GRU による時系列解析モデルの Summary を表 5 に示す。

表 5 GRU による時系列解析モデルの Summary

Model: "sequential"		
Layer (type)	Output Shape	Param #
gru (GRU)	(None, 32)	4512
dense (Dense)	(None, 78)	2574
reshape (Reshape)	(None, 6,13)	0

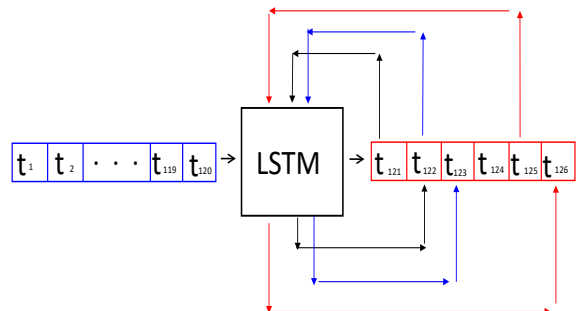


図 19 ARLSTM (Auto-Regressive LSTM) モデルの概要

3.2.5 ARLSTM による時系列解析モデルの構築

LSTM を改良し、過去の予測値を使って新しい予測値を生成しながら、予測値を徐々に出力する自己回帰の機構を取り入れた自己回帰ディープラーニングモデルが ARLSTM (Auto-Regressive LSTM) である。自己回帰モデルでは、予測値を 1 つずつ生成し、その予測値を次の予測値を生成するための入力として使用する (図 19)。自己回帰モデルでは、モデルの最初の予測の誤差が大きい場合、その誤差が次の予測に引き継がれ誤差が拡大する点に注意が必要である。

ARLSTM モデルの構築にあたり、中間層に配置する LSTM 層のニューロンの個数 (LSTMCell) について、最適な値を検討したところ、今回検討した 13 種の特徴量を 120 時間入力し、6 時間分出力するモデルでは、LSTMCell = 16 の設定で最も学習が進み良好な結果が得られたため、LSTMCell = 16 の設定でモデルを構築した。構築した ARLSTM モデルの Summary を表 6 に示す。

表 6 ARLSTM による時系列解析モデルの Summary

Model: "auto_regressive"		
Layer (type)	Output Shape	Param #
lstm_cell (LSTMCell)	multiple	1920
rnn (RNN)	multiple	1920
dense (Dense)	multiple	221

入力データと正解が与えられたとき、正解とモデルの予想結果がなるべく近くなるようにニューロンの重みを調整する。すべての訓練データを使用してモデルの学習を行うことを 1 エポックという。1 エポックの学習毎に評価関数から得られる誤差が小さくなるように重みが更新される。

今回構築した 3 種類の時系列解析モデルについて、最適化アルゴリズムに Adam、損失関数に MSE (平均二乗誤差)、評価関数に MAE (平均絶対誤差) を設定し、エポック数 500、patience=50 の EarlyStopping の設定で学習を実施した。1 エポックの学習ごと

3.2.6 構築した時系列解析モデルの学習

ニューラルネットワークモデルの学習では、訓練データとして、

に、訓練データで訓練し、検証データで検証して、検証データの MAE（平均絶対誤差）を計算した。検証データの MAE が事前に設定した回数分、改善されなくなるまで学習を繰り返した。この設定での学習回数は、LSTM モデルで 115 回、GRU モデルで 98 回、ARLSTM モデルで 305 回となった。

3.2.7 構築した時系列解析モデルの性能評価

構築した学習済みの各モデルから出力された検証データとテストデータの全特徴量の予測値より MAE（平均絶対誤差）を正規化したスケールで算出した。計算結果を図 21 に示す。LSTM モデルの検証データの MAE は 0.0312、テストデータの MAE は 0.0303、GRU モデルの検証データの MAE は 0.0316、テストデータの MAE は 0.0308、ARLSTM モデルの検証データの MAE は 0.0325、テストデータの MAE は 0.0313 であった。全特徴量の MAE の計算結果のモデル間の差は小さかったが検証データ、テストデータともに LSTM モデルの値が最も小さい値であり、予測精度が高かった。

学習済みの各モデルより、Ox 濃度のテストデータの予測値を 480 時間分出力し、結果を比較した。予測値は正規化したスケールで出力されるため、scikit-learn の `scaler.inverse_transform` 関数を用いて、予測値をもとのスケールに戻した後、実測値と比較しモデルの性能評価を行った。

各モデルの予測値と実測値より、MAE、RMSE を算出した。計算結果を図 22 に示す。LSTM モデルの MAE は 6.31、RMSE は 8.74、GRU モデルの MAE は 6.26、RMSE は 8.95、ARLSTM モデルの MAE は 5.85、RMSE は 8.15 であった。テストデータの Ox 濃度の予測値の MAE、RMSE ともに ARLSTM モデルの値が最も小さい値であり、予測精度が高かった。

Ox 濃度の実測値を横軸に、各モデルの Ox 濃度の予測値を縦軸にプロットして作成した散布図 (Observed-Predicted Plot) を図 23 (a)~(c) に示す。これらの図には、Ox 濃度の実測値と予測値より作成した回帰直線をあわせて記載している。回帰直線の決定係数 R^2 は、ARLSTM (0.859)、GRU (0.846)、LSTM (0.834) の順に大きい値であった。

また、各モデルのテストデータの Ox 濃度の予測値を横軸に、実測値と予測値の差（残差）を縦軸にプロットした残差プロットを図 23 (d)~(f) に示す。

テストデータの実測の測定時刻を横軸に、Ox 濃度の実測値及び今回検討した 3 種類の時系列解析モデルの Ox 濃度の予測値を縦軸にプロットした例を示す (図 24 (a)~(f))。図 24 (a) の 2023/3/14 のデータ、図 24 (b) の 2023/3/30 のデータのように、3 種類のモデル全てで予測値が実測値と重なり、正確に予測できた例、図 24 (c) の 2023/4/23 のデータ、図 24 (e) の 2023/5/25 のデータのように一部のモデルでは正確に予測できたが、その他のモデルでは、実測

値と予測値に乖離が見られた例、図 24 (d) の 2023/5/17 のデータ、図 24 (f) の 2023/7/7 のデータのように 3 種類のモデル全てで予測値と実測値に乖離が見られた例が観察された。図 24 (d) の 2023/5/17 は、京都府南部で Ox 濃度が 11 時以降に急激に上昇し、京都市、乙訓、宇治地域で光化学オキシダント注意報（15 時 10 分発令、17 時 10 分解除）が発令された日である。伏見局の 1 時間値の最高値は 15 時の 116 ppb であったが、構築した各モデルの Ox 濃度の予測値の最高値は、LSTM モデルが 85.4 ppb、GRU モデルが 85.4 ppb、ARLSTM モデルが 89.0 ppb であり、予測値と実測値に乖離が見られた。図 24 (f) の 2023/7/7 は、午後から Ox 濃度が上昇し、15 時の伏見局の 1 時間値が 106 ppb となった日であるが、14 時の天気は晴れ、15 時、16 時は曇、17 時は雨であり気象の変動が大きかった。Ox 濃度の 16 時の 1 時間値は 59 ppb となり、15 時から 16 時の 1 時間で Ox 濃度が急激に減少していた。構築した各モデルの Ox 濃度の予測値の最高値は、LSTM が 81.1 ppb、GRU が 74.5 ppb、ARLSTM が 79.0 ppb であり、予測値と実測値に乖離が見られた。

LSTM の問題点として、大きな状況の変化に対応できないことが指摘されており、急激な天気の変動がある状況では、予測の精度が低下することが示唆された。

Ox 濃度の予測モデルを実用レベルで運用するためには、光化学スモッグ注意報が発令されるような Ox 高濃度日のデータについても一定の精度で予測することが求められる。今回は、京都市のテレメーターの常時監視システムから得られるデータのみを使用して予測モデルを構築したが、今後、予測モデルの精度を実用に耐えうるレベルまで向上させるために、当日の天気予報、最高気

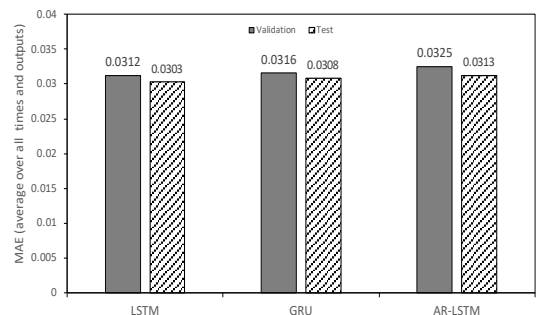


図 21 時系列解析モデルの全特徴量の平均絶対誤差 (MAE)

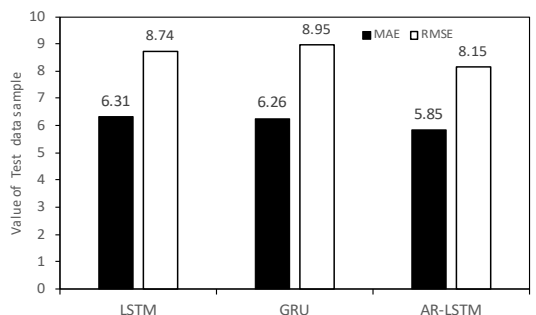


図 22 時系列解析モデルの光化学オキシダント濃度の MAE と RMSE

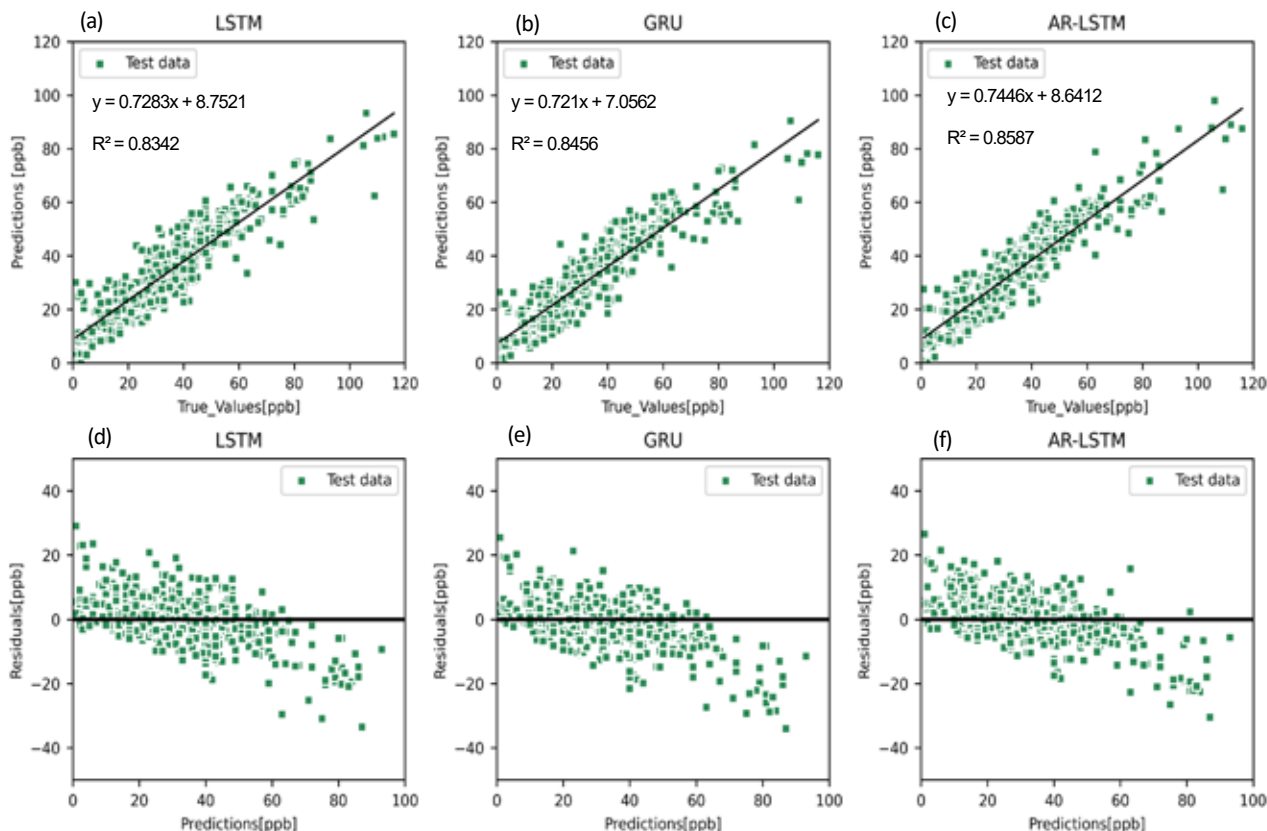


図23 時系列解析モデルのテストデータのOx濃度実測値と予測値の散布図((a)~(c))と残差(実測値と予測値の差)プロット((d)~(f))

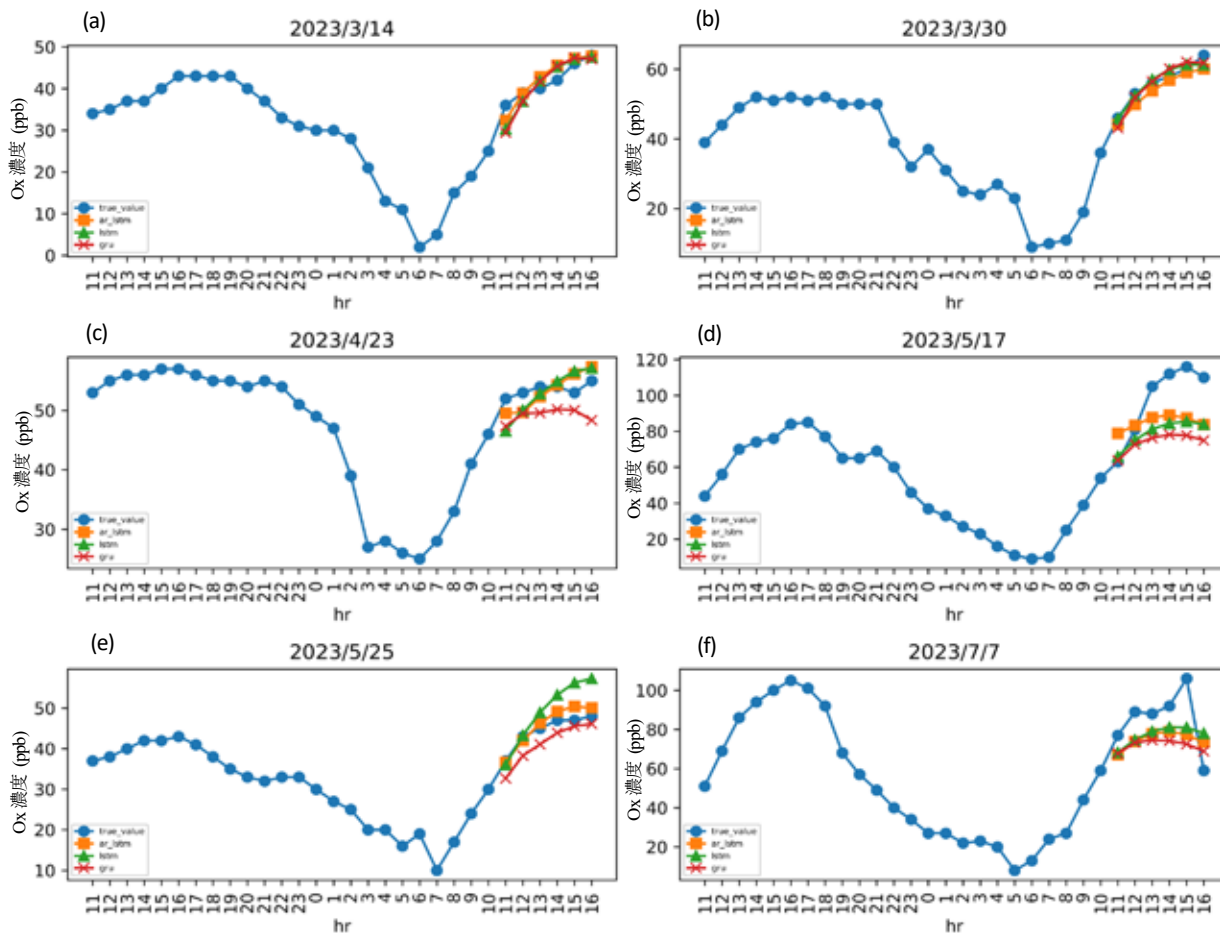


図24 時系列解析モデル(LSTM, GRU, ARLSTM)のOx濃度予測値とテストデータの実測値のプロット例

温、降水量などの気象予報データの特徴量も時系列解析の説明変数に取り入れる⁵⁾などとして、予測モデルの精度のさらなる改善を進める必要があると考えられた。

4 文献

- 1) TensorFlow: 時系列予測 (2024),
https://www.tensorflow.org/tutorials/structured_data/time_series
(2024.8.8 アクセス)
- 2) Marco Peixeiro: Python による時系列予測, pp. 259-403, マイナビ出版 (2023).
- 3) 毛利拓也, 北川廣野, 澤田千代子, 谷一徳: scikit-learn データ分析実装ハンドブック, pp. 58-155, 秀和システム (2019).
- 4) Aurélien Géron: scikit-learn, Keras, TensorFlow による実践機械学習第2版, pp. 113-224, オライリー・ジャパン (2020).
- 5) 静岡県: 深層学習手法を用いた光化学オキシダント濃度予測システムの自作 抄録 (2023),
<https://www.pref.shizuoka.jp/kenkofukushi/eiseiyakuji/shokuanzen/1040775/1025003.html> (2024.8.14 アクセス)

2 他誌掲載論文、学会発表等

1 他誌掲載論文

なし

2 学会発表等

- (1) 村上兆司、藤木学、梶野朱里、福本智也：LC/MS/MS を用いた乳の残留動物用医薬品一斉試験法の検討、第 60 回全国衛生化学技術協議会年会(2023 年 11 月)

3 衛生環境研究所セミナー

令和5年度 衛研セミナー発表演題

- ・日時 令和6年3月15日（金） 午後2時～午後4時40分
- ・場所 京都市衛生環境研究所 1階 大会議室

	テーマ	所属	発表者
1	当研究所における外部精度管理の現状と課題	管理課	瀧井 友希
2	京都市内におけるマダニの生息調査について	管理課	和田 好生
3	スイセンによる食中毒に対する新規検査方法の検討	食品化学部門	植芝 朱里
4	収去検体搬送時の信頼性確保について ～収去BOXの汚染状況と温度管理について～	微生物部門	筋篋 拓也
5	京都市における大気粉じん中の六価クロム化合物の分析	環境部門	端谷 柚希
6	※機械学習による京都市の光化学オキシダント濃度の予測 モデルの構築	環境部門	伴 創一郎
7	京都市と畜場に搬入される豚のサルモネラ保菌状況の調査	食肉検査部門	平岩 悟

※ 報文に掲載

「京都市衛生環境研究所における精度管理業務の現状と課題」

衛生環境研究所管理課 企画調整係

○瀧井 友希、石本 貞範、中村 正樹

1 はじめに

京都市衛生環境研究所（以下「当研究所」という。）では食品衛生法に基づく食品検査や、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（以下「感染症法」という。）に基づく検査を実施しており、食の安全確保による健康の保護及び感染症の発生予防や蔓延防止を図り、公衆衛生の向上及び増進に寄与している。これらの目的を達成するためには、検査の信頼性が常に確保されている必要がある。食品衛生法や感染症法では、検査の信頼性確保のため精度管理の実施が義務付けられており、法的には精度管理を含む信頼性確保業務を検査等の業務から独立させまた、信頼性確保業務を行う職員が検査等を行わないこととしている。当研究所でも検査に直接携わらない管理課企画調整係が信頼性確保担当としてその業務を担っている。また、食品の適正な検査業務の運営を図るため GLP 委員会を設置し、定期的に検査業務の改善見直しを図っている。

そこで本発表では当研究所における精度管理業務の取組を紹介するとともに、そのなかで見えてきた今後の課題について報告する。

2 精度管理業務の位置づけ

(1) 食品衛生法に基づく管理

当研究所は食品衛生法第 29 条に規定する食品衛生検査施設（以下「施設」という。）に該当し、食品衛生法施行令第 8 条第 1 項の規定に基づき、京都市食品衛生検査施設の設備及び職員の配置の基準に関する条例を定めている。また、食

品衛生法規則 37 条に於いて令第 8 条第 3 項に規定される事務の管理は、標準作業書による検査の確認、内部点検、外部精度管理等を通して精度管理を行うこととされている。

(2) 感染症法に基づく管理

感染症法第 14 条の 2 第 3 項に規定する病原体の検査を実施する場合、同法施行規則第 7 条の 4 第 2 項 2 号において、検査の精度管理を定期的実施するとともに、国等が行う精度管理に関する調査を定期的受けることと規定している。

3 内部点検

当研究所における検査において、試験品の採取から検査後の記録の保存までの工程に不備がないか確認を行っている。

食品化学部門、微生物部門感染症担当及び食品衛生担当においてそれぞれ年 1 回実施している。

また、食品収去検査の試験品に関しては医療衛生センターが採取・搬送を担っているため、医療衛生センター内で当研究所が検体採取搬送時の記録管理や採取後の保管管理の点検を年 1 回実施している。

4 外部精度管理

食品検査に関しては、厚生労働省指定の食品衛生外部精度管理調査業務実施機関として、（一財）食品薬品安全センター秦野研究所（以下、「秦野研究所」という。）が実施している外部精度管理に毎年参加している。令和 5 年度は微生

物学検査7項目、理化学調査4項目に参加した。

感染症検査に関しては、(一社)京都府医師会及び(一社)京都府臨床検査技師会が実施している京都府臨床検査精度管理調査に年1回参加している。また、令和5年度は厚生労働省及び結核予防会結核研究所が実施する外部精度管理事業にも参加した。

5 内部点検及び外部精度管理の結果

(1) 内部点検

令和5年度に実施した内部点検の結果は食品化学部門、微生物部門感染症担当及び食品衛生担当のいずれも良好であった。医療衛生センターでは搬送記録簿において一部鉛筆使用がみられたこと、搬送日時の記載漏れがあったことを指摘し、指導を行った。

(2) 外部精度管理

食品検査に関して、令和5年度秦野研究所が実施した外部精度管理の結果はまだ公表されていないが、令和4年度の結果については良好であった。

感染症検査に関して、評価成績が判明している令和5年度実施の京都府臨床検査精度管理調査及び厚生労働省実施の外部精度管理事業の結果は良好であった。

6 GLP委員会

食品検査に関して年に一度開催し、前年度の内部点検及び外部精度管理についての結果報告を行っている。結果を受けて、改善点が見られた場合は担当者から改善方法や、既に改善に向けて取り組んでいる場合は状況報告を行っている。

7 今後の課題

外部精度管理に於いては、特に問題の無い結果が得られている。しかしながらSOPに関して、実際の検査と乖離していることも散見され、今後、よりわかり易く正確なSOPが求められる。

8 総括

精度管理の取組は表に現れない地道な業務であるが、検査技術の維持、質を担保し、試験検査の信頼性を保証するうえで重要である。特に食品検査に関しては国において品質管理をISO/IEC17025の国際的な規格に合わせる改正作業が進められており、精度管理は今後より一層重要な業務として位置づけられることが想定される。

当研究所においては、検査の信頼性が常に確保されている必要があることから、精度管理は最重要項目として位置付け、取組んでいく必要がある。

京都市内におけるマダニの生息調査について

管理課 調査研究担当
○和田 好生、川崎 成人

1 はじめに

マダニは、ヒトをはじめとしてシカ、イノシシなどの哺乳類や鳥類等に寄生して血液を唯一の栄養源とし、種類によっては吸血の際に日本紅斑熱、重症熱性血小板減少症候群（SFTS）等の感染症の病原体を媒介することが知られている。感染症法の4類感染症に指定されている日本紅斑熱やSFTS、ライム病の全国患者数は、2023年では2018年に比べて1.5倍を超える数に増加している。また、マダニは効率よく吸血するために、様々な生理活性物質を宿主体内に送ることでアレルギー反応を引き起こす。本調査の目的は、京都市内に生息するマダニの生息状況や季節消長を把握することにより、マダニ媒介感染症の蔓延やマダニによる刺咬被害の防止に寄与することである。

2013年に国内でSFTS患者が発生したことや、シカをはじめとする野生動物の生息数が増加していることを背景に、当課では2014年より市内周辺部においてマダニの生息調査を継続して実施し、各種のマダニが生息していることを確認している。2023年からは市内の北部及び東部、中部の3地点において調査を実施しており、マダニの生息状況や季節消長、調査地点間における生息するマダニの種類に違いが見られた。これらの結果について考察したので報告する。

2 調査地点及び調査期間

(1) 2023年～2024年の生息調査

表1に、調査地点と調査期間を示す。

表1 調査地点と調査期間について

調査地点	地点の位置	調査期間（※）	調査頻度	立地環境
A	市内北部	2023年5月～2024年2月	月1回	山林と繋がり、多くのシカの目撃情報がある。
B	市内東部	2023年8月～2024年2月		山林と繋がり、シカやイノシシの目撃情報がある。一方、近隣に住宅地等がある。
C	市内中部	2023年9月～2024年2月		近隣に商業施設等がある地域で、野生動物の目撃情報はない。

（※）調査をするに当たり、各調査地点の地権者との調整を行ったことから、各地点の調査開始月は異なる。

(2) A地点における過去5年間（2019年～2023年）の生息調査

調査期間：2019年1月～2023年12月の5年間（月1回）

3 方法

(1) 調査方法

ア 採集方法：flagging法（旗ざり法）

フランネル布（縦70cm×横100cm）を長さ約1mの棒の一端に取付け、予め定めた調査経路の地表の植生や落ち葉の上に接するように歩行し、そこに付着したマダニ（幼虫を除く）はその場にてピンセットで採取し、エタノール入りバイアル瓶に保管した。調査終了後は、フランネル布を密閉袋に保管して持ち帰り、冷凍保管した。

イ 採集時間

調査地点1か所毎に概ね30分間

(2) 鑑別方法

採集したマダニは、以下の方法により形態学的特徴から鑑別を行い、採集数を集計した。

ア 成虫・若虫

成虫は実体顕微鏡で種および性別を、若虫は実体顕微鏡または生物顕微鏡で種を同定した。

イ 幼虫

冷凍したフランネル布からピンセットで採取し、生物顕微鏡でマダニの幼虫であることを確認した。
なお、種類の同定は実施していない。

4 結果と考察

(1) 2023 年～2024 年の生息調査結果

ア 各調査地点におけるマダニの生息状況（表 2）

シカ等の野生動物が目撃されている A 地点及び B 地点は各種のマダニが採集され、調査地点間で生息するマダニの種類に違いが見られた。両地点とも共通して、ヒトへの刺咬例が多いキチマダニやフタトゲチマダニが見られた。

表2 各調査地点におけるマダニの生息状況

	A 地点	B 地点	C 地点	主な寄生宿主	ヒトへの刺咬例	主な媒介感染症
キチマダニ	●	●	—	多くの 大型・中型哺乳類や鳥類	多い	日本紅斑熱
フタトゲチマダニ	●	●	—	ウシが優占宿主。多くの大型・ 中型哺乳類や鳥類	多い	SFTS、日本紅斑熱
ヒゲナガチマダニ	—	●	—	シカ、ウシ、 ウマ、カモシカなど	稀にある	SFTS
マダニ幼虫	●	●	—	ネズミやウサギなど 小型・中型動物	ある	種類による

(※1) マダニの生息の有無（●：生息あり、—：生息なし）

イ 各調査地点における各種マダニの季節消長

(ア) A 地点（図 1）

7 月～11 月にかけてマダニの採集が多く、その大半がマダニ幼虫であった。5 月にフタトゲチマダニが採集され、10 月～2 月にかけてキチマダニが多く採集された。

(イ) B 地点（図 2）

8 月～9 月にマダニの採集が多く、その大半がマダニ幼虫であった。12 月～2 月にかけてキチマダニとヒゲナガチマダニが多く採集された。8 月～9 月、2 月に、フタトゲチマダニが少数ながら採集された。

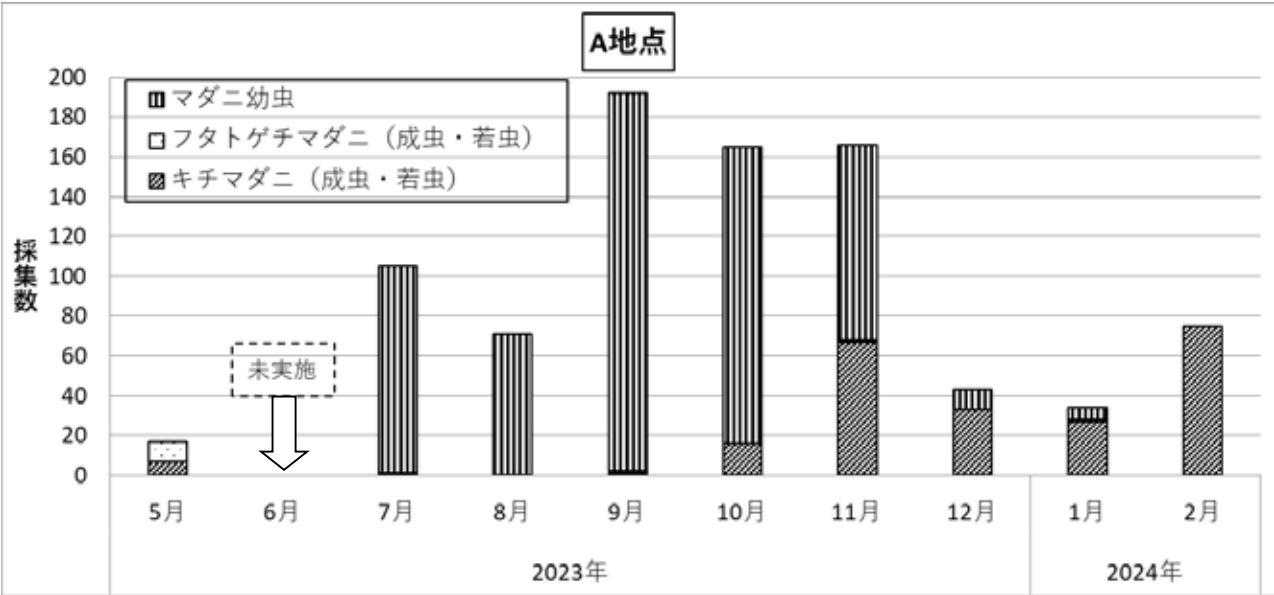


図 1 A 地点における月別の各種マダニ採集数

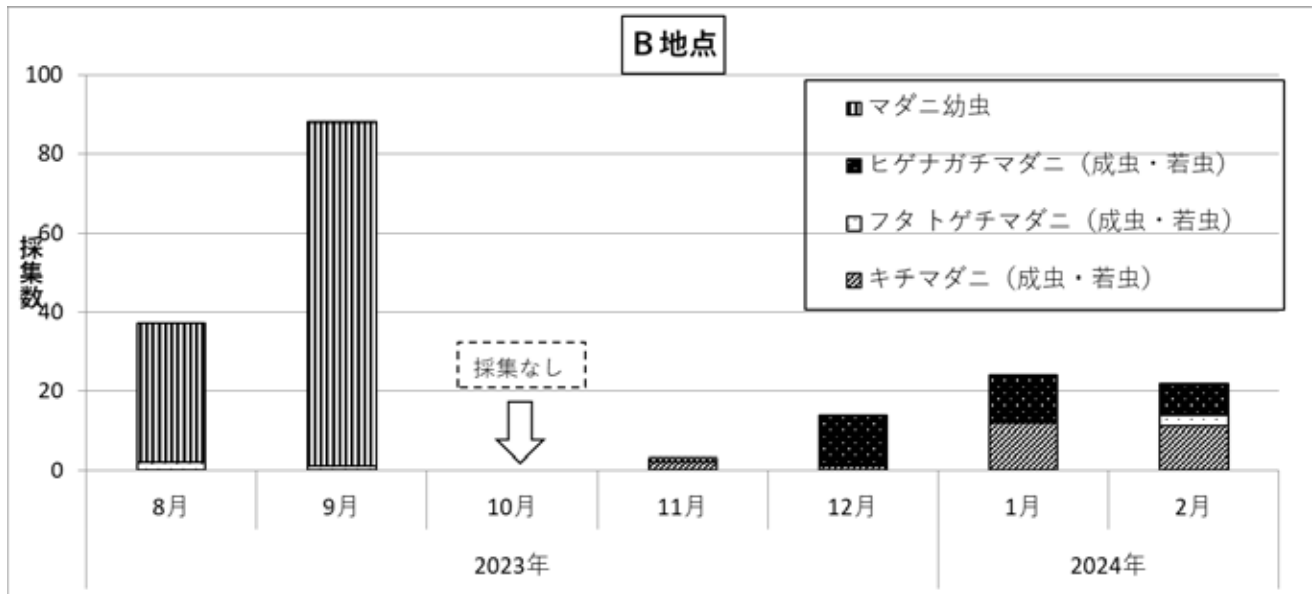


図2 B地点における月別の各種マダニ採集数

(2) A地点における過去5年間（2019年～2023年）の生息調査結果

ア 年別の各種マダニ（成虫・若虫）の採集数割合（図3）

キチマダニ及びフタトゲチマダニの2種類が採集された。いずれの年も、全採集数に占めるキチマダニの割合が大半を占めており（77%～93%）、A地点においてはキチマダニが優占種であった。

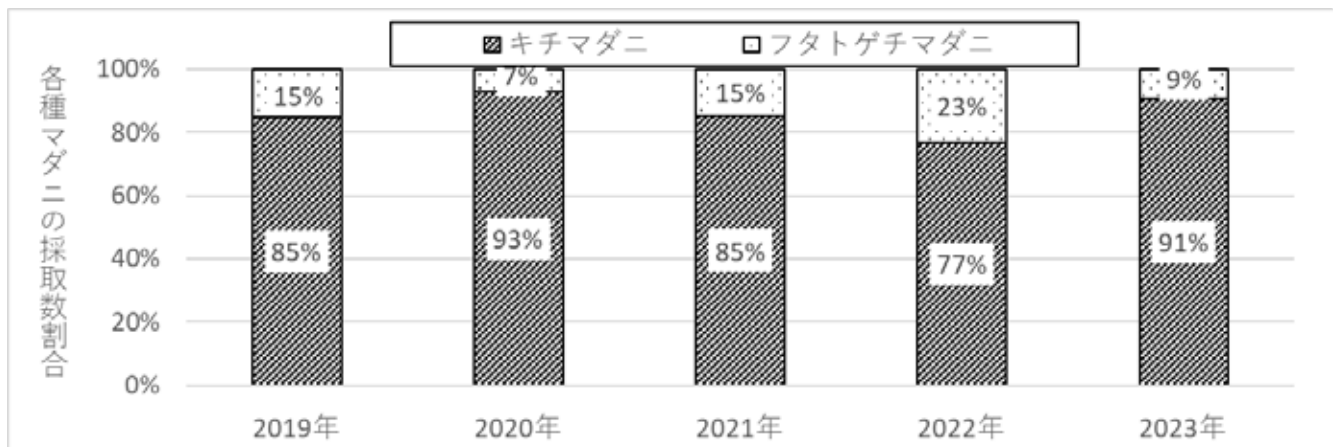


図3 年別の各種マダニ（成虫・若虫）の採集数割合（2019年～2023年）

イ 各種マダニの季節消長

(ア) 各種マダニの月別採集数

図4は、マダニ幼虫の採集記録を開始した2020年～2023年の4年間の各種マダニの月別採集数を示した。年間を通してマダニが採集され、特に8月～10月にかけて多くのマダニ（大半がマダニ幼虫）が採集された。この時期は、私たちが薄着で過ごす時期と重なることから刺咬被害に注意する必要がある。

(イ) キチマダニ・フタトゲチマダニ（成虫・若虫）の月別採集数（図5）

キチマダニは秋季～春季（10月～4月）にかけて多く採集され、フタトゲチマダニは春季～夏季（3月～8月）にかけて採集された。

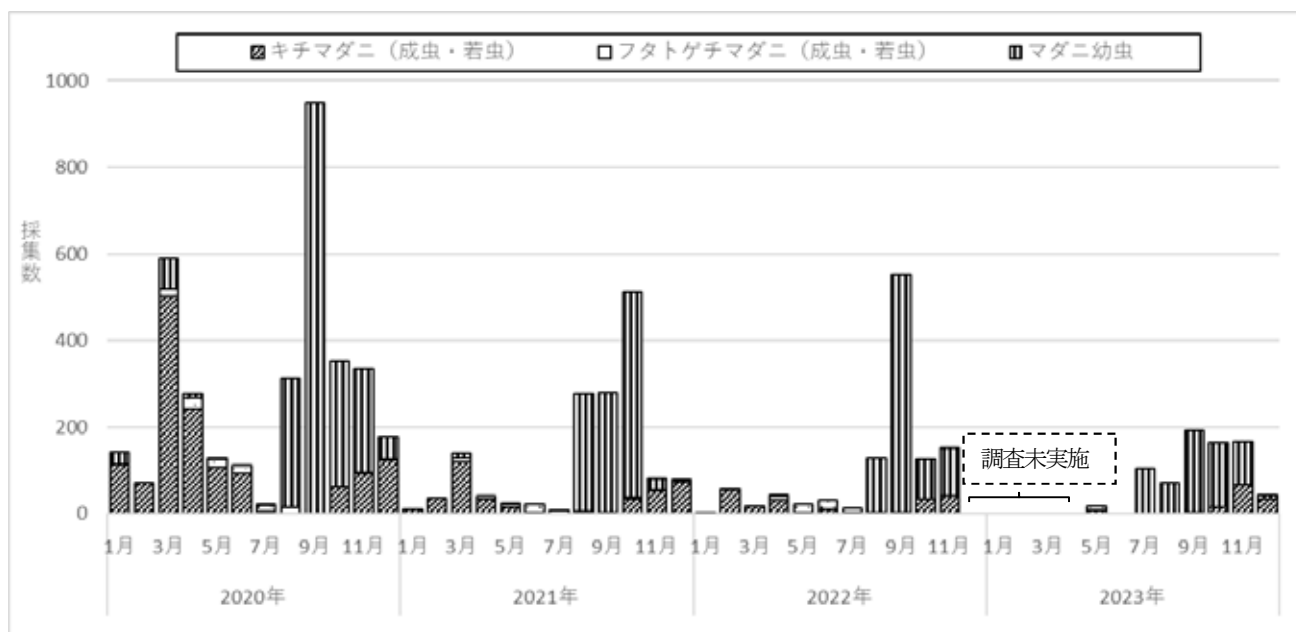


図4 各種マダニの月別採集数（2020年～2023年）

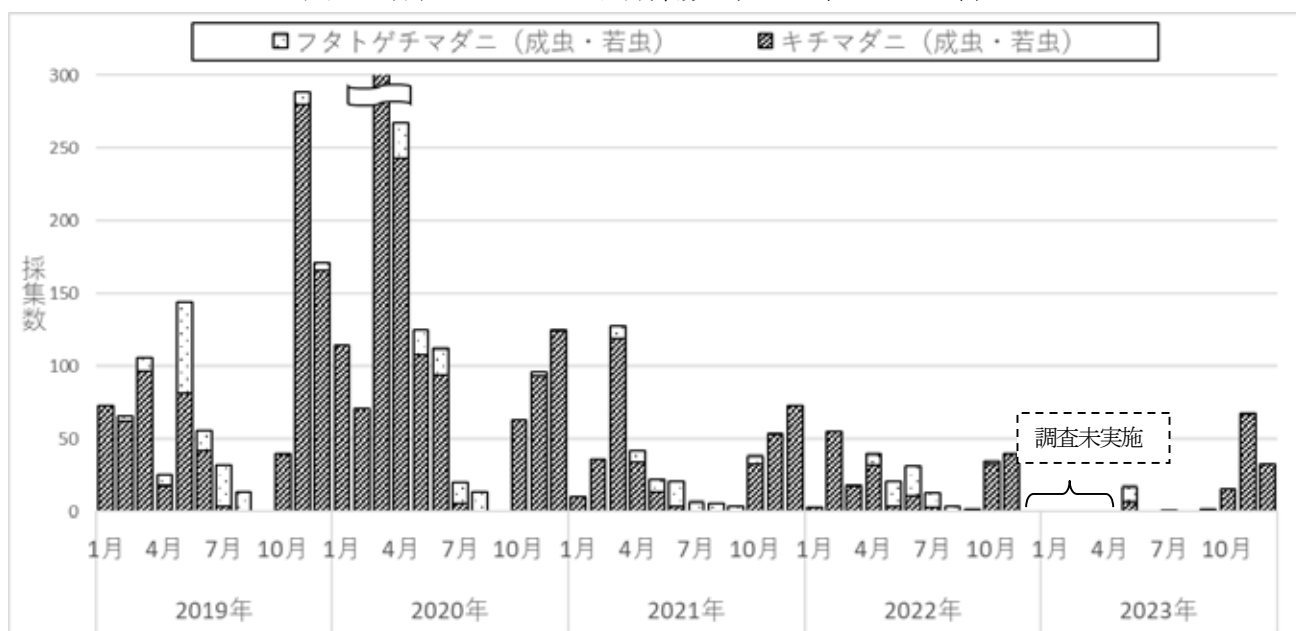


図5 キチマダニとフタトゲチマダニ（成虫・若虫）の月別採集数（2019年～2023年）

5 まとめ

2023年～2024年は調査期間が短いこともあり、3つの調査地点を単純に比較することは難しいが、シカ等の野生動物が目撃されている地点では各種のマダニの生息が確認され、調査地点間において生息するマダニの種類に特色が見られた。

マダニは夏～秋口にかけて多く採集され、種類の季節消長にも一定の傾向が見られた。マダニは年間を通して見られるが、私たちが薄着で過ごす時期にマダニが特に多く見られるため、刺咬被害に注意する必要がある。

市内におけるマダニの生息調査を継続することは、マダニ媒介感染症の蔓延やマダニによる刺咬被害を防止するために、市民へ啓発するためにも重要である。

スイセンによる食中毒に対する新規検査方法の検討

衛生環境研究所 食品化学部門

○植芝朱里、漆崎祐子、藤木学、村上兆司、松本剛芳、福本智也

1 はじめに

スイセンは観賞用植物として広く栽培されているが、リコリンやガラントミンに代表されるヒガンバナ科アルカロイドを含む有毒植物であり、スイセンの形状はニラや玉ねぎと酷似していることから、これら食用植物と誤認し喫食することによる食中毒が毎年発生している。死亡事例も報告されていることから、注意を要する食中毒である。

食中毒発生時、原因食材の残置品は様々な状態が想定される。上述した通り、ニラとスイセンが形体的に酷似していることから、調理品しか残っていない場合、原因植物の特定は困難であることが予想される。

当部門では、食中毒が発生した際、主に原因植物の葉や鱗茎を検体としリコリンをターゲットに分析しているが、夾雑物の多い調理品を分析することは困難であり、また、ガラントミンをターゲットとして分析する方法がないのが現状である。

そこで今回、調理品を検体としリコリンとガラントミンの一斉分析法を検討したので報告する。

2 方法

(1) 試料

当所の敷地内で栽培したスイセンの鱗茎を使用した。添加回収試験には市販のニラを使用した。各試料は採取してから使用するまで冷凍保存した。

(2) 試薬等

蒸留水：富士フィルム和光純薬（株）製 HPLC 用

メタノール：ナカライテスク（株）製 HPLC 用

ギ酸：富士フィルム和光純薬（株）製 LC/MS 用

酢酸アンモニウム：純正化学株式会社

固相カラム：Agilent Technologies 社製 Bond Elut SCX (500 mg/3 mL)

メンブレンフィルター：アドバンテック（株）製 DISMIC-13HP (PORE SIZE : 0.20 μ m)

ヒガンバナ科アルカロイド標準品

リコリン標準品：Sigma Aldrich 社製 リコリン塩酸塩 (M.W.323.8)

ガラントミン標準品：東京化成工業(株)製 ガラントミン臭化水素酸塩 (M.W. 368.3)

標準品は、リコリン及びガラントミンをそれぞれ 1000 μ g/mL となるようメタノールに溶解した後、混合標準液としてギ酸メタノールにより 10 μ g/mL に調製したものを使用した。

(3) 装置

高速液体クロマトグラフ (LC 部)：島津製作所（株）製 LC-30AD

質量分析計 (MS/MS 部)：島津製作所（株）製 LCMS-8030

(4) 測定条件

ア LC 条件

HPLC 用カラム：関東化学（株）Mightysil RP-18 4.6 mm i.d. x 150 mm 粒子径 5 μ m

移動相：0.1 %ギ酸含有 0.25 mM 酢酸アンモニウム水溶液（A 液）及び

0.1%ギ酸含有 0.25 mM 酢酸アンモニウムメタノール(B 液)

グラジエント条件（B 液）：

0% (0 min) $\rightarrow$ 0% (1 min) $\rightarrow$ 15% (1.1 min) $\rightarrow$ 100% (10 min) $\rightarrow$ 15% (10.1 min) $\rightarrow$
15% (60 min)

流速：0.2 mL/min

カラム温度：40 $^{\circ}$ C注入量：10 μ L

イ MS 条件

ネブライザーガス流量：1.5 L/min

ドライイングガス流量：15 L/min

ヒートブロック温度：400 $^{\circ}$ CDL 温度：250 $^{\circ}$ C

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化（ESI）法

インターフェイス電圧：+ 4.5 kV (Positive mode)

測定条件：表 1 のとおり

表1. 分析対象物と測定条件

分析対象物	ESI	前駆イオン (m/Z)	測定イオン (m/Z)	確認イオン (m/Z)
Lycoline	+	288	147	119
Galanthamine	+	288	213	198

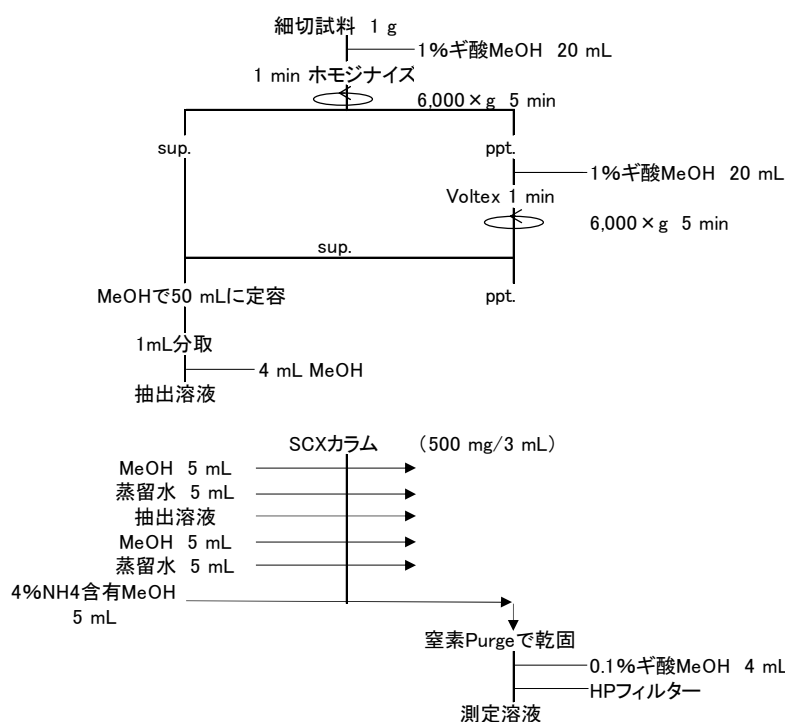


図 1. 測定溶液調製フロー

(5) 測定溶液の調製

測定溶液の調製のフローを図1に示した。試料 1.0 g を量り採り（調理品の場合は 1～5 g）、1%ギ酸含有メタノール 20 mL を加えた。その後 1 分間ホモジナイザーにより均一化し、遠心分離（6,000×g、5 分間）した。遠心後の上清を分取し、残った沈殿物に再度 1%ギ酸含有メタノールを加えて攪拌した後、同条件で 2 回目の遠心分離を行った。遠心後の上清を分取し、先の上清とあわせ、メタノールにて 50 mL に定容した。定容後の液から 1 mL 分取し、メタノール 4 mL とあわせたものを抽出溶液とした。メタノール 5 mL 及び蒸留水 5 mL にて順にコンディショニングした Bond Elut SCX に抽出液を全量負荷し、メタノール 5 mL 及び蒸留水 5 mL にて洗浄した後、4%アンモニア水含有メタノールにて溶出した。得られた溶出液は窒素気流下で溶媒を完全に除去し、残留物に 0.1 %ギ酸含有メタノール 4 mL を加えて得られた溶液を必要に応じて DISMIC-13HP (PORE SIZE : 0.20 μm) に通じ、測定溶液とした。

(6) 定量

検量線は、混合標準液を 0.1%ギ酸含有メタノールにより希釈し 0.1～500 ng/mL の濃度系列となるよう溶媒検量線を調製し、LC/MS/MS にて測定した。混合標準溶液及び測定溶液のクロマトグラムのピーク面積から、絶対検量線法により測定溶液中のリコリン及びガラントアミンを定量した。

(7) 添加回収試験

ニラにリコリン及びガラントアミンを 10 μg/g となるよう添加し 30 分間静置した後、本法に従って分析しリコリンおよびガラントアミンの添加量に対する回収率を求めた。本来であればスイセンを用いて添加回収試験を行うべきだが、スイセンにはリコリン及びガラントアミンが高濃度に含まれており、正確な回収率を求めることが困難となることが想定されたため、スイセンを用いた添加回収試験は行わなかった。

(8) 模擬調理品の添加回収試験

模擬調理品にはレトルトカレーを使用した。レトルトカレー 50 g を 200 mL ビーカーに採取しホットプレートにて加熱した。気泡が発生し始めてからさらに 5 分間加熱し、そのうち 5 g を分取した。加熱後の模擬調理品にリコリン及びガラントアミンを 10 μg/g となるよう添加し 30 分静置した後、本法に従って分析しリコリン及びガラントアミンの添加量に対する回収率を求めた。

(9) 模擬調理品の定量試験

レトルトカレー 40 g を 200 mL ビーカーに採取したところに、スイセンの鱗茎 10 g 加え、ホットプレートにて加熱し、気泡が発生し始めてからさらに 5 分間加熱し、模擬調理品とした。

模擬調理品は以下の 3 通りに分けて試験に供し、リコリン及びガラントアミンの含有量を測定した。

- (A) カレーのルー及び鱗茎以外の具材を 4 g 分取したところに、ともに煮込んでいたスイセンの鱗茎 1 g を加え合計 5 g としたもの
- (B) カレーのルーのみ 2 g を分取したもの
- (C) カレーのルーのみ 1 g を分取したもの

3 結果及び考察

(1) クロマトグラム及び検量線

リコリン、ガラントアミンともに当該物質を妨害するピークは検出されず、シャープなピークが確認できた。また、検量線においてはリコリン、ガラントアミンともに相関係数 0.99 以上で一定の直線性が確認され、リコリン及びガラントアミンの一斉分析が可能となった。スイセンの品種や部位、採取された季節によってはリコリンもしくはガラントアミンのどちらか一方しか検出されないといった報告¹⁾もあることから、本法によってより幅広い食中毒事例に対応できると考えられた。

(2) 添加回収試験

方法の項 8 模擬調理品の添加回収試験時においてもリコリン及びガラントアミンを妨害するピークは検出されず、シャープなピークが確認できた。調理品においても葉と同等な良好なピークが検出されたことから、本法の精製工程により、調理品中の夾雑物質が除去できていることが確認された。方法の項 7 及び項 8 における添加回収試験の結果を表 2 に示した。調理品は葉に比べてやや回収率が下がる傾向が見られたものの、全ての試料で平均約 80% 以上の回収率が得られた。今後、併行数や試行数を増やし検査結果のばらつきや堅牢性を評価する必要性はあるが、本法が実際の食中毒事例に適用できる可能性が示唆された。

表2. 添加回収試験の結果(n=2の平均値)

Sample	回収率(%)	
	リコリン	ガラントアミン
ニラ葉	99.3	80.5
調理品(カレー)	87.9	79.8

(3) 調理品の定量試験

模擬調理品の定量試験の結果を表 3 に示した。模擬調理品からもリコリン及びガラントアミンの検出が可能であった。また、鱗茎が含まれないカレーのルーからもリコリン及びガラントアミンが検出され、(条件 B、C) カレールーの量とリコリン及びガラントアミンの検出量におおよそ相関がみられたことから(条件 A は条件 B の約 2 倍、条件 C の約 4 倍)、リコリン及びガラントアミンの多くは調理後速やかにカレーのルーに移行していることが示唆された。実際の食中毒発生時も残置食中の植物の葉や鱗茎だけでなく、食品全体を検査に供することが重要であると考えられた。

表3. 調理品の定量試験の結果

	定量値($\mu\text{g/g}$)	
	リコリン	ガラントアミン
(A) 鱗茎 1 g + ルー 4 g	17.1	0.14
(B) ルー 2 g	8.3	0.06
(C) ルー 1 g	4.3	0.03

4 まとめ

LC/MS/MS によるリコリン及びガラントアミンの一斉分析法を検討した。1%ギ酸含有メタノールにより抽出を行い、SCX カラムを用いて精製することにより、夾雑物の多い検体からもリコリン及びガラントアミンの検出が可能となった。今後検討の試行数を増やし、本法の堅牢性を確認することで食中毒発生時には原因植物の特定に寄与できる可能性が示唆された。

参考文献

- 1) 青森県環境保健センター年報 第 30 号 (2019) スイセンによる食中毒について

収去検体搬送時の信頼性確保について ～収去 BOX の汚染状況と温度管理について～

京都市衛生環境研究所 微生物部門

○筋篁 拓也、植 貴俊、原田 裕子、
富田 陽子、中川 力、清水 英信

1 はじめに

都道府県等が設置する食品衛生検査施設が食品等の収去検査を行う際は、GLP（Good Laboratory Practice：試験検査業務の適正管理運営基準）の遵守が義務付けられている。微生物試験に限らず、試験対象の食品（検体）の採取、保管、搬送の取扱いは、試験結果に大きな影響をおよぼす可能性のある重要な作業であり、これらが適切でなければ正しい試験結果が得られず、評価を誤ることになる。

京都市では、医療衛生センターの担当者が収去した食品等を試験品の搬送用容器（以下「収去 BOX」という。）の中に入れて、衛生環境研究所（以下「当所」という。）へ搬送し、検査を実施している。そのため、検体を搬送する収去 BOX は検査の信頼性に寄与するが、収去 BOX 内部の汚染状況については平成 28 年度に調査して以降、把握できていない。また、搬送中の収去 BOX 内部の温度は、最高・最低・搬入時の 3 点の温度を記録しているが、経時的な温度変化は確認できていない。

今回、検体の搬送時に使用される収去 BOX について、内部の汚染状況及び温度変化を調査し、若干の知見を得たのでここに報告する。

2 目的

収去検査の信頼性確保を目的として、検体搬送時に使用される収去 BOX の取扱いについて妥当性を検証するために、収去 BOX 内部の汚染状況及び温度変化を調査した。

3 調査対象と方法

(1) 調査対象

収去 BOX：令和 5 年 6 月～11 月に、当所への試験品搬送に使用された容器を調査対象とした。

大きさは幅 370mm（端から 60mm に仕切り）、奥行き 215mm、高さ 200mm（図 1）。

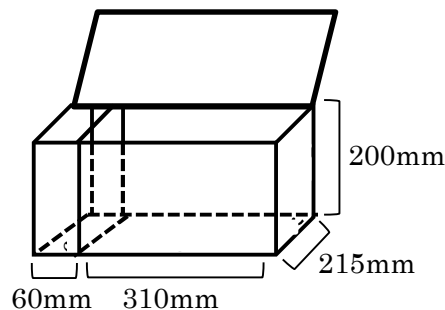


図 1 収去 BOX 概略

(2) 汚染状況調査

調査対象の収去 BOX 中 18 箱の内側 3 か所（底面（図 2 ①）、側面（図 2 ②）及び蓋裏（図 2 ③））を、10cm×10cm の範囲でふき取り、汚染状況（一般細菌数及び大腸菌群）を京都市衛生環境研究所検査実施標準作業書（汚染指標菌）に則り調査した。

(3) 温度状況の検討

収去 BOX 内部に保冷剤を配置した時間を 0 分とし、経時的な温度を 5 時間後まで測定した。

温度測定は底面、側面、蓋裏の 3 か所とした（図 2 ①～③）。

なお、保冷剤を底面に配置した場合は、保冷剤上にキムタオルを置き、キムタオル上を測定場所とした。

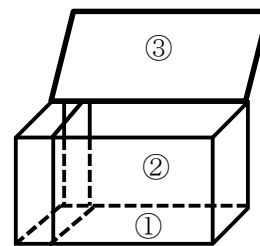


図 2 ふき取り又は温度測定場所

保冷剤は、実際に検体搬入に用いられていた保冷剤のうち、使用頻度の多い 2 種を用いた(表 1)。

保冷剤の数や種類、また配置する場所による影響を確認するため、配置場所は、収去 BOX 内の底面に横置き、仕切り部分に縦置き及びその両方(図 3)とし、表 2 ア～キの条件で配置し、温度変化を測定した。

表 1 保冷剤の種類

A : 重量1,000g、保冷剤の温度グレード0℃
B : 重量760g、強冷仕様(表面温度-10℃以下)

表 2 保冷剤の配置

条件	ア	イ	ウ	エ	オ	カ	キ
底面 (横置き)	A	B	-	-	A	B	B
仕切り部分 (縦置き)	-	-	A	B	B	A	B

※搬入された保冷剤の都合上、

保冷剤 A を底面及び仕切り部分に配置しての条件下では測定できなかった。

仕切り部分

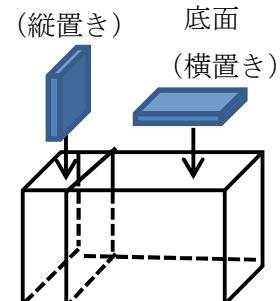


図 3 保冷剤の配置場所

4 結果

(1) 汚染状況調査

各収去 BOX の底面、側面及び蓋裏をふき取って検査した一般細菌数の結果を表 3 に示した。各測定部位の一般細菌数の平均値は底面：550,000/100cm²、側面：1,500/100cm²、蓋裏：30 以下/100cm²だった。収去 BOX : B を除いたすべての収去 BOX において底面で一般細菌数が最多だった。

大腸菌群は、一般細菌数の検査に用いたふき取り液を使って検査を実施したが、すべての収去 BOX で陰性だった。

また、追加調査として、収去 BOX 内部をエタノールで清拭した場合の影響をみるため、任意に抽出した収去 BOX : M を用いて検査を行った。収去 BOX の内部をエタノールで清拭し、1 日後にふき取り検査を実施したところ、底面の一般細菌数が 12,000/100cm² となり、清拭前(1,800,000/100cm²)と比較し、大幅な減少(99.3%)が見られた。

表 3 収去 BOX 別の細菌数の検出状況について

収去 BOX	一般細菌数(/100cm ²)		
	底面	側面	蓋裏
A	4,100	80	30 以下
B	65	80	30 以下
C	87,000	30 以下	30 以下
D	85,000	30 以下	30 以下
E	250,000	130	30 以下
F	11,000	30 以下	30 以下
G	130,000	380	30 以下
H	5,400,000	60	30 以下
I	1,100,000	100	30 以下

収去 BOX	一般細菌数(/100cm ²)		
	底面	側面	蓋裏
J	210,000	90	30 以下
K	190,000	100	30 以下
L	50	30 以下	30 以下
M	1,800,000	30 以下	30 以下
N	20,000	30 以下	30 以下
O	290,000	590	45
P	4,300	30 以下	30 以下
Q	230,000	25,000	80
R	3,800	30 以下	30 以下
平均	550,000	1,500	30 以下

(2) 温度状況の検討

収去BOXに保冷剤を配置した時間を0分とし、5時間後まで温度測定した結果を図4に示した。

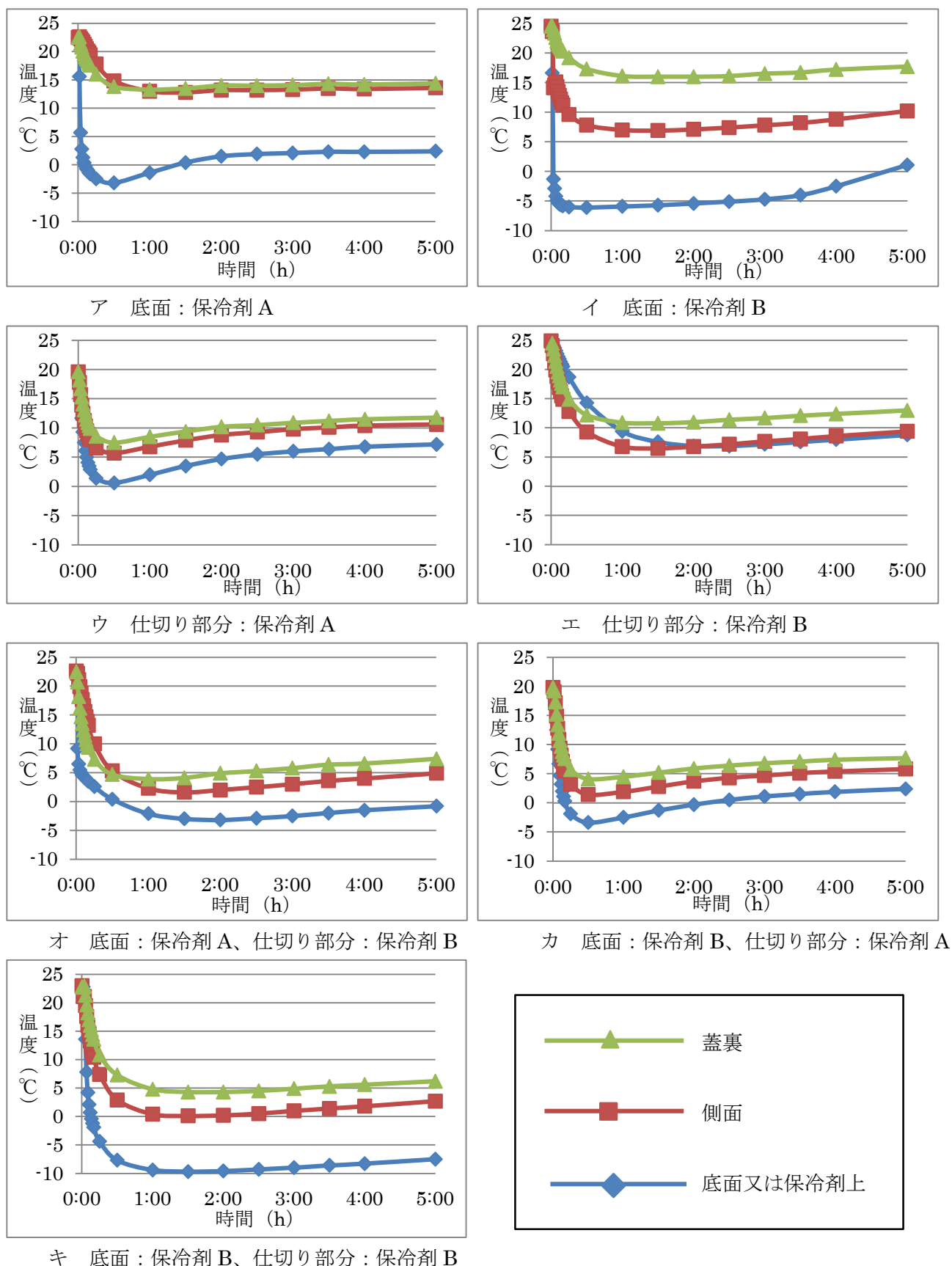


図4 収去BOX内の温度変化について (ア～キ)

また、図 4 ア～キの条件における、各測定部位の最低温度及び 5 時間後の温度を表 4 に示した。

表 4 保冷剤の配置条件ア～キにおける各測定部位の最低温度及び 5 時間後の温度 (°C)

	底面又は保冷剤上		側面		蓋裏	
	最低	5 時間後	最低	5 時間後	最低	5 時間後
ア(底面：A、仕切り部分：-)	-3.2	2.4	12.8	13.6	13.3	14.4
イ(底面：B、仕切り部分：-)	-6.1	1.1	6.9	10.2	16.0	17.7
ウ(底面：-、仕切り部分：A)	0.6	7.2	5.7	10.6	7.5	11.8
エ(底面：-、仕切り部分：B)	6.9	8.8	6.5	9.4	10.8	13.0
オ(底面：A、仕切り部分：B)	-5.1	-0.1	2.0	6.1	5.0	8.7
カ(底面：B、仕切り部分：A)	-3.4	2.4	1.4	5.8	4.1	7.7
キ(底面：B、仕切り部分：B)	-9.7	-7.5	0.1	2.7	4.3	6.2

底面のみに保冷剤を配置した場合では、条件アにおいて側面及び蓋裏では 10°C を下回らなかった。また、条件イでも、蓋裏では 10°C を下回らず、側面では 5 時間後に 10°C 以上となった。

仕切り部分のみに保冷剤を配置した場合では、条件ウにおいて 5 時間後に側面及び蓋裏が 10°C 以上となった。条件エでは蓋裏では 10°C を下回らなかった。

底面及び仕切り部分に保冷剤を 2 個配置した場合には、いずれの条件でもすべての測定部位において 10°C を超えなかった。

5 考察およびまとめ

収去 BOX 内部の汚染状況は、主に、底面が汚染されていることが多く、この傾向は平成 28 年度の調査にも見られた(平成 28 年度調査時、一般細菌数の平均値は底面:69,000/100cm²、側面:650/100cm²、蓋裏 270/100cm²)。検体搬送時には、収去 BOX が汚染されている可能性や包装が破損する可能性を考慮し、検体は滅菌袋に入れることが必須である。また、収去 BOX 内部をエタノールで清拭すると、清拭していない場合と比較して底面の一般細菌数は大幅に減少したことから、検査の信頼性を確保するため、使用前にエタノールで清拭することが重要である。

厚生労働省の改正「大量調理施設衛生管理マニュアル」の別添 1 には、大量調理施設における原材料、製品等の保存温度が記載されており、冷蔵が必要なものは食品によって 15°C、10°C 又は 5°C 以下と分類されている。そのため、収去検体搬送時には、検体を 10°C 以下、特に生食用鮮魚介類を搬送する際は 5°C 以下に保てる条件下で搬送することが望ましい。今回の検討では、配置した保冷剤から遠い蓋裏は保冷剤に近い底面及び側面よりも温度が高くなる傾向にあった。今回の結果を踏まえ、収去検体を 10°C 以下に保ちたい場合には、底面及び仕切り部分に保冷剤を 2 個配置する必要がある、さらに、収去検体を 5°C 以下に保ちたい場合は、条件キのように底面及び仕切り部分に強冷タイプの保冷剤を配置しつつ、蓋裏近くまで検体を入れないようにする必要がある。ただし、条件キでは、保冷剤上の温度が 5 時間後にも -7.5°C となったため、保冷剤に直接接する部分が冷凍状態となる可能性もあり、注意が必要である。

収去検査は、医療衛生センターでの試験品の採取、搬送から当所における検査、検査結果を通知するまでが GLP の対象とされており、試験品の搬送方法や取扱いについての妥当性を検証し、精度管理の向上を図っていく必要がある。今回の調査により得られた収去 BOX に関する情報を医療衛生センターと共有し、今後の検体搬送時に役立て、収去検査の信頼性を一層確保できるように努めたい。

京都市における大気粉じん中の六価クロム化合物の分析

環境部門 端谷 柚希

1 はじめに

六価クロムは人体に有害であり、細胞内のたんぱく質や DNA に結合して代謝異常やがん、皮膚の炎症、喘息、肝臓の損傷を引き起こすとして、大気汚染防止法の優先取組物質に指定されている。

浮遊粉じん中のクロム化合物は、三価クロムまたは六価クロムの形態を取っている。これらを形態別に分析する方法は確立されていなかったが、環境省水・大気環境局大気環境課により六価クロム化合物の分析方法が検討され、2018 年 3 月から有害大気汚染物質測定方法マニュアルに正式に追加された¹⁾。しかし、大気粉じん中の六価クロムは非常に微量且つ科学的に不安定であるため、このマニュアル通りに分析を行っても再現性良く測定できない問題が指摘されている。特に、フィルタ中に含まれている水溶性の三価クロム化合物が高温、水分、紫外線等の影響下で六価クロムに酸化されることで、ブランクフィルタ中からも六価クロムが高濃度で検出される現象が報告されている。

当部門では、毎月一回、左京区総合庁舎において大気粉じんのサンプリングを行い、六価クロム化合物の分析を行っている。しかしながら、ブランク用フィルタの抽出液からも六価クロムのピークが検出され、さらにフィルタごとにブランク値のばらつきが見られている。これが原因で定量下限値が目標定量下限値 (0.08 ng/m^3) を上回ったり、二重測定の測定値の差が許容範囲である 30 %を超えたりして欠測扱いとなる月も多く、まずは安定して測定結果を得ることが一つの課題とな

っている。そこで当部門では、六価クロムの捕集に用いるアルカリ含浸フィルタの作成条件や、捕集後の測定条件について、フィルタ中の三価クロムの酸化を防ぎ、フィルタのブランク値を一律で低く保てるような条件の検討を行っている。今回は、令和 4 年度から令和 5 年度にかけての検討の結果得られた知見について報告する。

また、環境省と契約している検査機関（株式会社静環検査センター）が、京都市と日時・場所を同じくして六価クロム化合物のサンプリング及び分析を毎月行っており、京都市の測定結果との比較（クロスチェック）を実施している。本稿においても、当部門におけるブランク値及び測定値と静環検査センターの報告値との比較を行って、分析精度の指標とした。

2 実験方法

六価クロム化合物測定方法マニュアルに示されている方法のうち、当部門では「アルカリ含浸フィルタ捕集 - イオンクロマトグラフ - ポストカラム吸光光度法」を採用している。この方法では、アルカリ性に処理したフィルタで六価クロム化合物を捕集し、これを超純水により抽出してイオンクロマトグラフに導入し、クロム酸イオンとしてカラムで分離した後ジフェニルカルボノヒドラジドと反応させ、吸光光度検出器で測定する。（図 1）



図1 イオンクロマトポストカラム法の配管

(1) 標準品及び試薬

ア 標準品：クロム標準液 1

(原子吸光分析用 関東化学)

イ 1,5-ジフェニルカルボノヒドラジド

(有害金属測定用 ナカライ)

ウ 硝酸(有害金属測定用 ナカライ)

エ 硫酸(試薬特級 ナカライ)

オ アンモニア水

(有害金属測定用 ナカライ)

カ 硫酸アンモニウム(試薬特級 和光純薬)

(2) 試料採取装置

ア フィルタホルダ：ニールフィルタホルダ

(東京ダイレック)

イ アルカリ含浸フィルタ：

直径 47mm 5 種 C ろ紙(ADVANTEC)

(4) アに述べる方法で作成した。

ウ ポンプ：MP-ΣN II (柴田科学)

(3) 装置及び測定条件

装置

溶離液送液ポンプ 島津LC-12AD
 反応液送液ポンプ 島津LC-12Ai
 カラムオープン 島津CTO-20AC
 オートサンプラー 島津SIL-20AC
 PDA検出器：島津SPD-M20A 検出波長540nm
 分離カラム：Dionex IonPac AS7 内径4mm 長さ25cm
 保護カラム：Dionex IonPac AG7 内径4mm 長さ5cm
 溶離液：125 mmol/L硫酸アンモニウム -50 mmol/Lアンモニア
 反応液：2 mmol/Lジフェニルカルボノヒドラジド-10 %メタノール-0.5
 mol/L硫酸
 カラム温度：40℃
 流量：溶離液 1.0 mL/min 反応液 0.2 mL/min
 反応温度：40℃
 注入量：250 μL

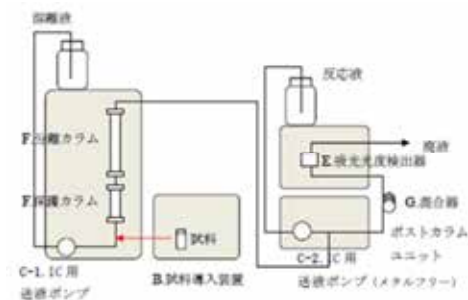


図2 イオンクロマトグラフ 六価クロム分析システム

(4) 試料採取及び試験液の調製

ア アルカリ含浸フィルタの調製

5 種 C フィルタを(1+9)硝酸に浸し、フィルタ中の六価クロムを溶出させた後、水で洗浄及び超音波洗浄をしてフィルタ中の酸を取り除いた。その後 0.12 mol/L 炭酸水素ナトリウム溶液に浸してフィルタを弱アルカリ性にし、乾燥させ、密封して冷凍庫で保管した。

イ 試料の採取

試料採取用のアルカリ含浸フィルタを装着したフィルタホルダを図3のように各部と接続し、大気を 5 L/min で 24 時間採取した。

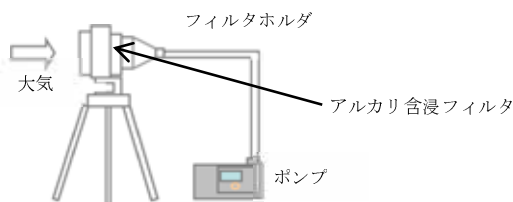


図3 六価クロムの試料採取装置

ウ 試験液の調製

大気粉じんを捕集したアルカリ含浸フィルタを PP 製の抽出容器に入れ、超純水 5 mL を加え、30 分間超音波をかけて六価クロムを抽出した。この抽出液を PP 製注射筒に取り、ディスクフィルタ (PALL 社製アクロディスク IC、孔径 0.45 μL) を取り付けろ過した後、オートサンプラーバイアルに移し、試験液とした。

3 条件検討

ア アルカリ含浸フィルタ作成条件の検討

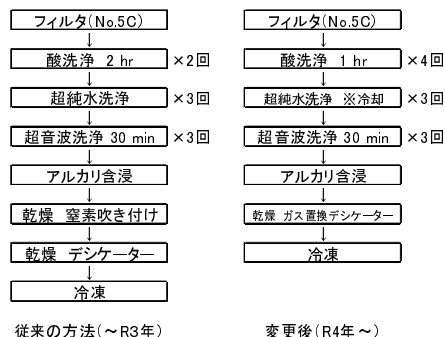


図4 アルカリ含浸フィルタ作成法のフローチャート

まず、(1+9)硝酸を用いた酸洗浄は、2時間2回よりも1時間4回で行うと溶出効果が高いという環境省の報告を受け、それに倣った変更を行った²⁾。

続いて超音波洗浄だが、この工程はブランク値の低下に効果的であり、当部門の過去の研究においても超音波洗浄の導入によってブランク値の顕著な低下が見られている³⁾。しかし、超音波洗浄中は水温が上昇しやすく、高温環境下で洗浄しきれず残った三価クロムの酸化が進みやすくなることが懸念された。よって、水浴に氷を加えて温度管理を行い、水温は常に25℃以下を保つようにした。

また、フィルタの乾燥の工程にガス置換デシケーターを導入した。従来の手法では、窒素吹き付け装置でフィルター一枚一枚に窒素ガスを吹き付けて水気を飛ばし、冷蔵庫内のデシケーターで完全に乾燥させてから冷凍庫で保管していたが、フィルタが完全に乾燥するまでに数日を要するためその間に水分の影響を受けることが考えられ、また長時間室内空气中にさらすことによる影響も懸念された。一方、ガス置換デシケーターは窒素ボンベと

直接接続して用いており、内部に常に窒素を充填させながら、約3時間程度で全てのフィルタを完全に乾燥できるようになった。また、乾燥中にデシケーターを覆うことで遮光も容易になった。

イ 試験液調製の手法の検討

従来の手法では、抽出効率を高める意図で、フィルタを一枚ずつ細断してから超純水による抽出を行っていた。しかし、この細断過程で室内空气中に長時間フィルタをさらしてしまうことの影響を鑑みて、フィルタを細断せずに、捕集面を下にしてPP製カップに入れて抽出を行うように変更した。また、ここでも水温の上昇を防ぐために、超音波洗浄時は氷を入れて温度管理を行った。

4 結果・考察

ア 操作ブランク値の年度別比較

令和3年度は変更前の条件で測定を行っており、令和4年度以降は変更後の条件で測定を行っている。

まず、各年度の操作ブランクの年平均値を比較したところ、令和4年度の平均値は令和3年度の0.40倍、令和5年度の平均値は令和3年度の0.52倍にまで低下した。(図5)

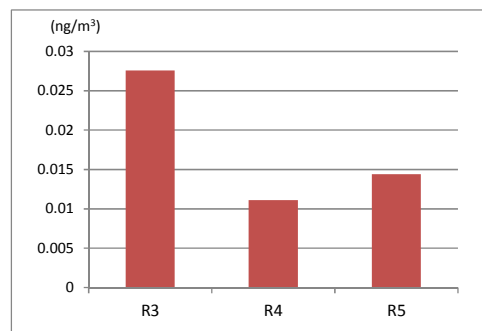


図5 操作ブランク中の六価クロム濃度の年平均値

また、月ごとの操作ブランク値を比較すると、令和4年度及び5年度は、気温が上がる春～夏期にはブランク値が高く出る月もあったものの、秋～冬期は 0.010 ng/m^3 付近の値で概ね安定しており、気温がブランク値の高低に関係していることが考えられる。(図6)

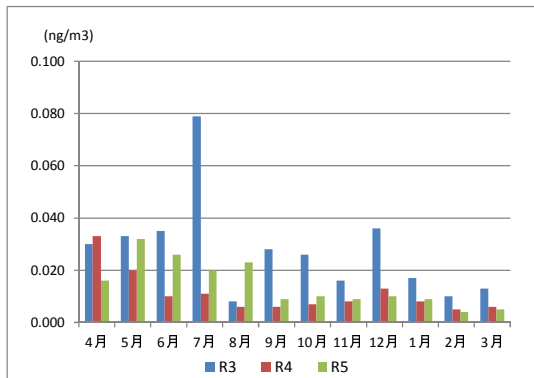


図6 操作ブランク中の六価クロム濃度の月別比較

イ 六価クロム測定値の年度別比較

左京区総合庁舎での六価クロム化合物の測定値は、令和3年度が $0.011 \sim 0.053 \text{ ng/m}^3$ の範囲で平均値は 0.027 ng/m^3 、令和4年度が $0.0075 \sim 0.084 \text{ ng/m}^3$ の範囲で平均値は 0.035 ng/m^3 、令和5年度が $0.0087 \sim 0.011 \text{ ng/m}^3$ の範囲で平均値は 0.039 ng/m^3 であった。3年間での年平均値の推移は概ね横ばい傾向であり、いずれの年度も EPA（米国環境保護庁）の 10^{-5} リスクレベル基準(年平均値が 0.8 ng/m^3 以下)を下回っていた。(図7)

また、令和3年度の欠測の回数は5月、8月、10月の計3回なのに対し、令和4年度の欠測は5月の計1回、令和5年度も6月の計1回で、ブランク値のばらつきに起因する欠測の回数は減少している。

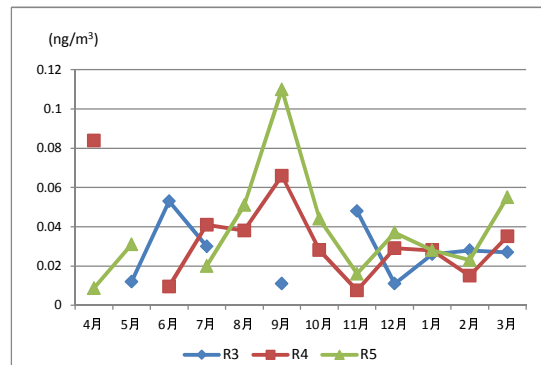


図7 左京区総合庁舎における六価クロム測定値の年間推移

ウ 静環検査センターとのクロスチェック

年度別に毎月のブランク値を比較したところ、令和3年度と比べて令和4年度及び5年度の方がより静環検査センターのブランク値に近い値を出すことができていた。(図8、9、10)

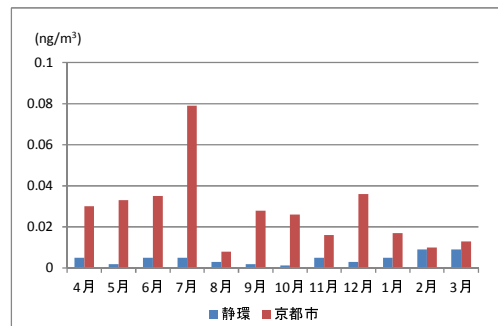


図8 ブランク値比較（令和3年度）

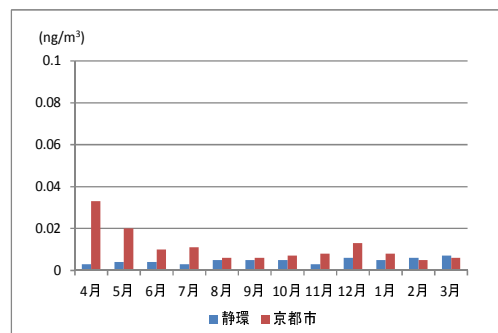


図9 ブランク値比較（令和4年度）

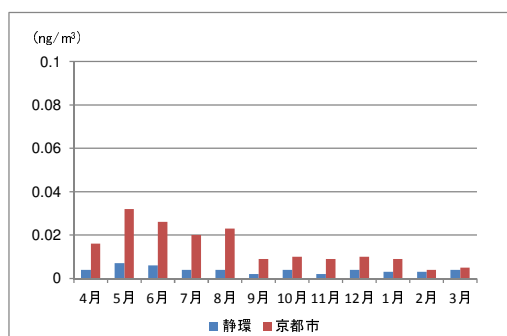


図1 0 ブランク値比較 (令和5年度)

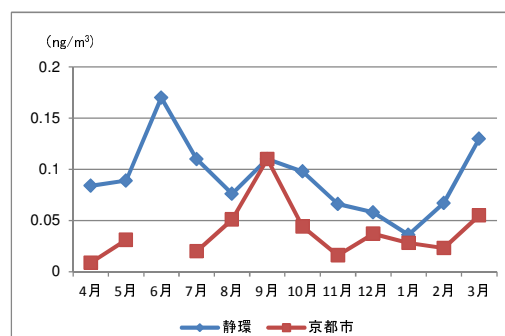


図1 3 測定値比較 (令和5年度)

続いて、左京区総合庁舎における測定値についても比較を行った。(図1 1、1 2、1 3)

各年度の相関係数は令和3年度が 0.071、令和4年度が-0.022、令和5年度が 0.40 となり、いずれの年度においても、静環検査センターの測定結果と京都市の測定結果との間の相関は低いという結果となった。静環検査センターのデータが正しいと仮定すると、分析精度には未だ課題が残ると考えられる。

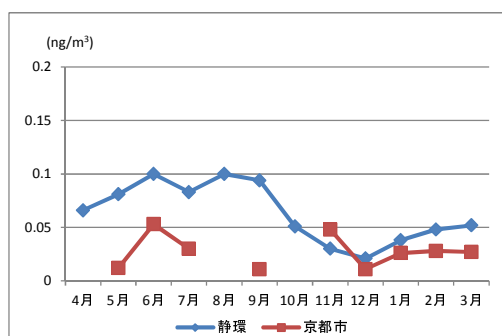


図1 1 測定値比較 (令和3年度)

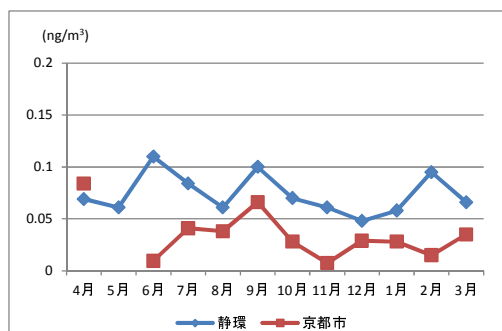


図1 2 測定値比較 (令和4年度)

5 まとめ

六価クロム測定の実験条件検討を行った結果、フィルタ中に含まれている三価クロムの六価クロムへの酸化反応を引き起こす要因である高温、水分、紫外線等を排除することが、フィルタのブランク値を低下させる上で有効であることが分かった。ブランク値の低下によって測定結果が欠測扱いになることが減少し、安定して結果を出すことが可能になったが、分析精度については未だ改善の余地があり、今後はより精度を向上させるために、ブランク値以外の精度に関わる要因についても検討する必要がある。

6 参考文献

- 1) 環境省:大気粉じん中の六価クロム化合物測定方法
- 2) 環境省:令和3年度大気粉じん中六価クロム化合物測定方法調査業務報告書
- 3) 伴創一郎:京都市における大気粉じん中の六価クロム化合物濃度について、京都市衛生環境研究所年報、86、131-134、2020

京都市と畜場に搬入される豚のサルモネラ保菌状況の調査

京都市衛生環境研究所 食肉検査部門

○由本 芙弓、平岩 悟、
山本 裕己、小野寺 佳隆

背景

豚サルモネラ症は世界各国に分布し、わが国でも 1990 年代以降各地で多発している、敗血症や下痢症を主徴とする感染症である。*Salmonella enterica* subsp. *enterica* のうち、血清型 Choleraesuis (以下「SC」という。) 及び血清型 Typhimurium が病原菌として分離頻度が高く、この 2 つの血清型は家畜伝染病予防法において届出伝染病に指定されている。京都市と畜場では、令和元年 7 月に 8 年ぶりとなる豚サルモネラ症による全部廃棄措置例が出て以来、令和 4 年 6 月までに計 90 例を豚サルモネラ症と判定し、全部廃棄措置とした。最も多く検出されたのが SC で、複数の出荷者から検出された。しかし、令和 4 年 7 月以降、令和 5 年 12 月現在まで、豚サルモネラ症による廃棄例は生じていない。

このような状況を踏まえ、京都市と畜場に搬入される豚のサルモネラ保菌状況を出荷者別に調査し、結果を報告するとともに、分析して今後のと畜検査及び衛生指導に還元する。

材料及び方法

1 予備実験

試験菌の冷凍菌株をトリプトソイブイオン培地（栄研化学）に接種し、37℃で 24 時間培養した。試験菌には以下の 4 種類を使用した。括弧内は抗原構造（O 抗原：H 抗原 I 相：H 抗原 II 相）を示す。

S. Choleraesuis var. *Choleraesuis* (O7：HUT) (以下「SCC」という。)

S. Choleraesuis var. *Kunzendorf* (7：c：1,5) (以下「SCK」という。)

S. Typhimurium (4：i：1,2) (以下「ST」という。)

S. Derby (4：f, g：-) (以下「SD」という。)

培養液をポアメディア羊血液寒天培地（栄研化学）に塗布して 37℃で 24 時間培養し、得られたコロニーを滅菌生理食塩水に加えて 300 CFU/mL、30 CFU/mL 及び 3 CFU/mL の菌液を調製した。各菌液を 10 µL ずつ AC プレート（3M）に接種し、35℃で 48 時間培養し、コロニー数を計測した。また、各菌液を 10 µL ずつ滅菌綿棒に染み込ませ、modified semisolid Rappaport agar for stab culture (以下「MSRAsc」という。) に接種して 42℃で 24 時間培養した。MSRAsc は 50 %濃度のラパポート培地（栄研化学）に 0.5 %のカザミノ酸及び 0.12 %の寒天を加えたもので、糞便などの共雑菌のあるサンプルからでもサルモネラ属菌の分離能に優れた培地である。¹⁾

その後、ES サルモネラ寒天培地及び ES サルモネラ寒天培地II (以下「ES」及び「ES II」という。栄研化学) に画線塗抹し、36℃で 24 時間培養した。得られたコロニーを LIA 培地 (BD)、VP 半流動培地、SIM 培地及び TSI 培地 (いずれも栄研化学) に接種し 24 時間培養し、生化学的性状を確認した。あわせて、当該コロニーを普通寒天培地（栄研化学）で純培養した。

純培養で得られた菌体に対して、サルモネラ免疫血清「生研」及びサルモネラ相誘導免疫血清「生研」（デンカ生研）を用いて O 抗原及び H 抗原の検査を行った。

2 本実験

豚係留所において、滅菌綿棒で豚の肛門を拭いとった。6 つの出荷者からそれぞれ月に 1 回ずつ、

無作為に 5 頭程度から採材した。採材期間は令和 5 年 7 月から 9 月とした。

採材後の綿棒を、MSRAsc に接種し、42℃で 24 時間培養した。その後、予備実験と同様に ES 及び ESII に接種し培養した。ES あるいは ES II のいずれかに定型的コロニー（ES：黒色、ES II：ピンク色）を認めた場合、それぞれの培地から最大 5 個のコロニーを LIA 培地、VP 半流動培地、SIM 培地及び TSI 培地に接種し、培養した。あわせて、当該コロニーを普通寒天培地で純培養した。

サルモネラ属菌を疑う生化学的性状を認めた場合、純培養で得られた菌体に対して、予備実験と同様に O 抗原及び H 抗原の検査を行い、血清型を確認した。

結果

1 予備実験

各試験菌を MSRAsc から ES 及び ES II に接種すると、SCC は 23,100 CFU/mL、SCK は ES に接種した場合 2,100 CFU/mL、ES II に接種した場合 21,100 CFU/mL、ST は 300 CFU/mL、SD は 200 CFU/mL 以上であれば検出できることが分かった。

試験菌の生化学的性状は、リジン脱炭酸 (+)、VP (-)、IPA 反応 (-)、インドール産生 (-)、ブドウ糖分解 (+)、乳糖及び白糖分解 (-) だった。運動性及び硫化水素産生については SCC のみ (-) であり、SCK、ST 及び SD は (+) だった。

2 本実験

7 月の採材検体からは、3 つの出荷者で ES II において、サルモネラ属菌を疑うコロニーを検出した。当該コロニー計 7 個のいずれにおいても、サルモネラ属菌を疑う生化学的性状を認めなかった（表 1）。したがって、7 月は全ての出荷者でサルモネラ属菌の検出がないという結果であった。

表 1 7 月の採材検体のうち、サルモネラ属菌を疑うコロニーの生化学的性状

	出荷者 A					出荷者 C	出荷者 D
	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
リジン脱炭酸	+	+	+	+	+	+	+
VP	-	-	-	-	-	-	-
運動性	+	+	+	+	+	-	+
IPA 反応	-	-	-	-	-	-	-
インドール産生	+	+	+	+	+	+	+
ブドウ糖分解	+	+	+	+	+	+	+
乳糖及び白糖分解	-	-	-	-	-	-	-
硫化水素産生	-	-	-	-	-	-	-

8 月の採材検体からは、3 つの出荷者で ES 及び ES II において、サルモネラ属菌を疑うコロニーを検出した。当該コロニー計 8 個について生化学的性状を確認したところ、出荷者 C 及び D のコロニーの全て（①から④）及び出荷者 E のコロニー⑤及び⑦については、サルモネラ属菌を疑う生化学的性状を認めなかった（表 2）。出荷者 E のコロニー⑥及び⑧の生化学的性状は、サルモネラ属菌を疑う結果であったが、O 抗原試験のスライド凝集反応及び H 抗原試験の試験管内凝集反応で、いずれも凝集は認められなかったため、8 月は全ての出荷者でサルモネラ属菌の検出がないという結

果であった。

表2 8月の採材検体のうち、サルモネラ属菌を疑うコロニーの生化学的性状

	出荷者 C	出荷者 D			出荷者 E			
	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
リジン脱炭酸	+	+	+	+	+	+	+	+
VP	-	-	-	-	+	-	+	-
運動性	+	+	-	+	+	+	+	+
IPA 反応	-	-	-	-	-	-	-	-
インドール産生	+	+	-	+	-	-	-	-
ブドウ糖分解	+	+	-	+	+	+	+	+
乳糖及び白糖分解	-	-	-	-	-	-	+	-
硫化水素産生	-	-	-	-	-	+	+	+

9月の採材検体からは、2つの出荷者で ES 及び ES II において、サルモネラ属菌を疑うコロニーを検出した。当該コロニー計 10 個について生化学的性状を確認したところ、出荷者 A のコロニー①、②及び④については、サルモネラ属菌を疑う生化学的性状を認めなかった（表3）。出荷者 A のコロニー③及び⑤の生化学的性状は、サルモネラ属菌を疑う結果であったが、O 抗原試験のスライド凝集反応及び H 抗原試験の試験管内凝集反応で、いずれも凝集は認められなかった。出荷者 B のコロニーの全て（⑥から⑩）について、サルモネラ属菌を疑う生化学的性状を認めた。また、コロニー⑥から⑩のいずれも、O 抗原試験及び H 抗原試験で凝集が認められ、抗原構造は 4:f,g:-だった。したがって、9月は1つの出荷者から SD が検出されたという結果であった。

表3 9月の採材検体のうち、サルモネラ属菌を疑うコロニーの生化学的性状

	出荷者 A					出荷者 B				
	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩
リジン脱炭酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VP	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
運動性	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IPA 反応	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
インドール産生	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ブドウ糖分解	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
乳糖及び白糖分解	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
硫化水素産生	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

考察

今回、京都市と畜場に豚を搬入している6つの出荷者における、サルモネラ属菌の保菌状況を調査した。その結果、1つの出荷者で SD が検出された。

一方で、令和4年度以前に廃棄例が多発していたSCは、いずれの出荷者からも検出されなかった。この結果は、令和4年7月以降、豚サルモネラ症による廃棄例がなくなっていると畜検査の現状と一致するものであり、京都市と畜場に豚を搬入している出荷者において、オールインオールアウト等が機能してSCが清浄化された可能性があると考えられる。ただし、今回使用した培地における検出限界が血清型により異なるという結果だったので、今後、異なる種類の培地と組み合わせて調査することで、今回は検出されなかった血清型も検出される可能性があると考えられる。

SDは豚には非病原性であるが、人の食中毒の原因菌となる危険性のある血清型²⁾として知られている。SDによる食中毒事例の報告も複数あり、国内では散発事例及び集団事例での検出が報告されている。^{3,4)}したがって、京都市と畜場に搬入される豚が、と畜検査上で明らかな異常を認めなくても、食中毒の潜在的なリスクとなっている可能性が示唆された。今回SDが検出されたのは1つの出荷者のみだったが、今回検出された出荷者の豚に限らず、と畜解体作業の質を向上させることで食中毒の潜在的なリスクを減少させることができると考えられる。そのためには内臓及び枝肉への糞便汚染を防止し、各作業工程における手指洗浄及び器具の消毒や作業後の汚染の目視確認等の必要性を、作業の関係者全員で共有することが重要であると考えられる。

参考文献

- 1) Fujihara Masatoshi, Sakazume Noriko, Tagaino Yuuka. Modification of semisolid medium for stab culture to isolate *Salmonella enterica* from rectal swabs : Japanese Journal of Veterinary Research, 70(1), 29-32(2022)
- 2) 清水悠紀臣ほか編. 動物の感染症. 近代出版(2002)
- 3) 長谷篤、小笠原準、中村寛海、和田崇之、梅田薫、入谷展弘、久保英幸、改田厚、関口純一郎、阿部仁一郎、濱田信夫、有川健太郎、大山み乃り、後藤 薫. 2010年に大阪市内の食中毒原因調査において検出された下痢原性微生物：大阪市立環科研報告 平成22年度 第73集, 23～28 (2010)
- 4) 江渕寿美、馬場愛、瓜生佳世、樋脇弘. 焼肉店を原因施設としたサルモネラ (*Salmonella* Derby, *S. Anatum*) による集団食中毒2事例－福岡市：IASR, Vol.27 No.8, 201-202(2006)

発行日 令和7年1月
発行 京都市衛生環境研究所
〒612-8369
京都市伏見区村上町 395 番地
☎(075)606-2676 / eikouken@city.kyoto.lg.jp