

I . 総括研究報告

厚生労働行政推進調査事業費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）

総括研究報告書

「環境水に含まれる新型コロナウイルス等病原体ゲノム情報の活用に関する研究」

研究代表者：吉田 弘 国立感染症研究所

分担研究者：神垣太郎 国立感染症研究所

喜多村晃一 国立感染症研究所

佐々木顕 総合研究大学院大学

濱崎光宏 福岡県保健環境研究所

研究協力者：坂 恭平 青森県環境保健センター

筒井理華 青森県健康福祉部

北川和寛 福島県衛生研究所

花田裕司 千葉県衛生研究所

藤沼裕希 千葉県衛生研究所

黒沢博基 埼玉県衛生研究所

濱本紀子 埼玉県衛生研究所

長島真美 東京都健康安全研究センター

熊谷遼太 東京都健康安全研究センター

小澤広規 横浜市衛生研究所

谷 英樹 富山県衛生研究所

川上利恵 富山県衛生研究所

板持雅恵 富山県衛生研究所

葛口 剛 岐阜県保健環境研究所

伊藤 雅 愛知県衛生研究所

中村範子 愛知県衛生研究所

松浦侑輝 奈良県保健研究センター

山本紗也 奈良県保健研究センター

藤本泰之 和歌山県環境衛生研究センター

寺西彩香 和歌山県環境衛生研究センター

望月 靖 岡山県環境保健センター

木田浩司 岡山県環境保健センター

清迫理恵 岡山県環境保健センター

眞榮城徳之 沖縄県衛生環境研究所

平良遥乃 沖縄県衛生環境研究所

鈴木清樹 総合研究大学院大学

大槻亜紀子 総合研究大学院大学

重村浩之 国土交通省国土技術政策総合研究所

研究要旨 新型コロナウイルス感染症が令和5年5月に5類へ移行する

ことを踏まえて国土交通省、厚生労働省連携による新型コロナウイルス下水サーベイランスが開始された。その結果は厚生労働科学研究班（以下、研究班）が解析しウェブサイトで同年 9 月より公表を開始した。なお令和 6 年度より下水サーベイランスは感染症流行予測調査事業に組み込まれることとなり下水中のウイルス情報を活用するための検討も行うこととした。地方衛生研究所の研究協力者が実施する同じ試薬を用いたウイルスゲノム反応系による調査では、定点あたり報告数と下水中のウイルス量の増減を比較したところ処理場ごとに増減傾向が異なるため、下水固有の要因が影響している可能性を示唆した。

一方、同一処理区内にて異なる手法で測定した下水中ウイルス量を比較、検討したところ、検査手法が異なる調査でも、感染動向のトレンド把握には一定の頑健性が確認できた。しかし結果の信頼性を担保するためには検査機関ごとにインハウスの精度管理が必要である。

下水サーベイランスの結果を疫学解析に活用するべく全数報告時のデータを活用して次の基盤的研究を行った。下水中のウイルスコピー数をサーベイランスの閾値として用いるため、内閣官房実証事業による先行調査の公開データを用いて検討したところ、シグナルとしては 1×10^5 GC/L を閾値として設定した場合、もっとも尤度が高くなり、人口 10 万人当たりの報告数が 300 人以上あるいは 100 人以下である確率が高いことがわかった。

下水中ウイルス濃度を用いて処理区域での SARS-CoV-2 の流行を予測する数理疫学モデルを開発した。このモデルを 2020 年以降の A 自治体での下水中ウイルス濃度時系列データに適用することにより、A 自治体での流行の高い精度の予測が可能になった。結果を踏まえ地域固有のパラメータを推計し感染動向を把握するアプリを開発した。

このように下水サーベイランスの結果を感染動向の把握のために活用するには、下水固有の要因を踏まえ処理区ごとに中長期的なデータの蓄積を行い多面的な検討がデータ解析時に必要である。よって下水中の新型コロナウイルス情報は調査対象とする地域固有の要因に依存する情報であり、新型コロナウイルス感染症を把握する定点サーベイランスの補完的な役割として用いることが適当である。

また本研究では下水サーベイランスを活用した下水処理場及び施設排水から下水中の複数種ウイルス等同時検査手法の検討を行った。国内の感染症発生動向調査で報告される呼吸器系、腸管系ウイルス疾患の代表的な起因ウイルス等を同時に検出するため、プライマー・プローブを固相化したカスタムパネルを作成し評価を行ったところ、複数病原体ゲノム検出に対応した簡便な検査系を作成することができた。しかしカスタムパネル作成のコスト面、技術面では呼吸器パネルの検出感度など更なる検討が必要であった。

A. 研究目的

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) を

引き起こす新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) は上気道以外に、腸管でも感染が成立し

一定の割合で糞便中に排出される。感染者の鼻汁、唾液、糞便等に含まれるウイルスは下水へ排出される。

環境水サーベイランスは河川水、下水を調査対象とするが、下水サーベイランスは下水に特化しており都市部における感染動向を顕性、不顕性によらず感染者の存在を把握できる。こうした特性により COVID-19 拡大初期から感染動向把握に関する多くの下水サーベイランスが国内外で実施された。下水固有の要因等により感染者推計には多くの課題があるが、検査報告体制の状況次第では有用性が認められている*。

*WHO Environmental surveillance for SARS-CoV-2 to complement other public health surveillance. 12 September 2023.

<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/372995/9789240080638-eng.pdf>

令和 2 年度以来の先行研究では既存のポリオウイルス環境水サーベイランス（感染症流行予測調査事業）を活用し、SARS-CoV-2 監視体制構築のための以下の研究を行ってきた。

- Ⅰ ウイルスゲノム検出、変異株検出法を新たに開発、検討し全国 12 か所の地方衛生研究所にて下水調査を実施。検出感度の改良等が課題であること。
- Ⅰ 首都圏 A 自治体の調査（5 処理場）にて感染者数と下水中ウイルス量に高い相関関係が見いだされ（ADB へ報告）、データ解析ツールを作成した。地域における活用には行政ニーズ、疫学状況を踏まえた解析が課題であること。
- Ⅰ 感染者の有無を早期探知するため高齢者施設排水中ウイルスゲノム検出法を新たに検討。採水頻度を増やすことにより早期の感染管理に貢献する可能性が認められマニュアル等を作成。普及には施設のニーズに沿った検査コンテンツの検討、コストが課題であること。
- Ⅰ さらに令和 5 年 5 月 8 日より新型コロナ

ナウイルス感染症は 5 類感染症に移行したこと、また令和 4 年に実施された内閣官房実証事業による処理場及び個別施設での実証結果が公表されたこと、令和 6 年度に下水中の SARS-CoV-2 濃度の把握について、次年度から都道府県の地方衛生研究所が参加する感染症流行予測調査事業に組み込まれる方針であることを踏まえ、新たな課題に対応するための研究が必要になった。

新規研究ではウィズコロナ社会を視野に入れ、以下を実施する。

1. 下水中の SARS-CoV-2 量の活用に関する研究

- Ⅰ 国土交通省と連携の下、下水中ウイルス量と感染者数の解析を実施。公表に向けた課題を整理し、発信時の情報基盤を検討
- Ⅰ 全数から定点把握へ移行時の下水中のウイルス量から地域の感染者数の推計法の研究
- Ⅰ 同一処理区内にて異なる手法で測定された下水中ウイルス変動量の比較、検討
- Ⅰ 定点把握方式へ移行後の下水中ウイルスデータ解析手法の検討
- Ⅰ 令和 5 年 5 月以降、あらたに調査を開始する地方公共団体における検査体制の検討

2. 下水処理場及び施設排水を対象とした下水中の複数種ウイルス等同時検査手法の研究

- Ⅰ 感染症発生動向調査事業による対象疾患と比較して下水で検出可能な複数同時検査対象とする病原体の検討を行う。
- Ⅰ 高齢者介護施設でニーズの高いノロウイルス等、排水中の複数病原体を同時検知する研究を行う。

B. 研究方法

1. 下水中の SARS-CoV-2 量等の活用に関する研究

(1) 下水中ウイルス量と感染者数の解析結果の公表に向けた課題整理(担当:吉田)

国土交通省、厚生労働省連携調査による SARS-CoV-2 下水サーベイランスの結果についてウェブサイトを通じて発信するため、地方自治体へヒアリングを実施し、情報発信の項目、内容を検討する。また定期的に情報を発信するためウェブサイトを構築し、情報発信時の課題を整理する。ヒアリングは両省庁と連携して行った。

情報発信を行う対象自治体

情報発信を行う対象自治体は以下の通り

- 1 国土交通省による調査事業などで得られた自治体のデータ:札幌市、仙台市、横浜市、大津市、大阪市、福岡市、小松市、養父市(8自治体)
- 1 厚生労働科学研究班に参加する地方衛生研究所での測定するデータ:福島県、富山県、愛知県、岐阜県(4自治体)
- 1 国土交通省、厚生労働省連携調査で得られるデータ:神奈川県、大分市(以上自治体による測定データ)、埼玉県、沖縄県(以上地方衛生研究所で測定するデータ)

データ加工とウェブサイト運営

各自治体にて実施した下水サーベイランスによる調査結果は、国土交通省あるいは各地方衛生研究所から提供を受けた。データ解析はエム・アール・アイ リサーチアソシエイト株式会社に委託し、ウェブサイト運営は一般社団法人 WNP へ委託を行った。

(2) 下水中のコロナウイルス量と感染者数の比較解析(担当:神垣)詳細は分担研究報告書参照

下水中のウイルスコピー数をサーベイランスの閾値として利用を検討するため令和4年度「ウィズコロナ時代の実現に向けた主要技術の実証・導入に係る事業計画 下水

サーベイランスの活用に関する実証事業」報告*より得られた各処理場における SARS-CoV-2 の RNA コピー数情報と当該処理区にある保健所単位の疫学データを用いて、その感度、特異度および internal likelihood ratio (ILR) を算出し解析を行った。

* 内閣感染症危機管理統括庁「下水サーベイランス」

<https://www.caicm.go.jp/action/survey/surveillance.html>

(3) 全数から定点移行後の下水中ウイルスと感染動向把握の方法

ア. 地方衛生研究所 6 か所で行った調査結果(担当:吉田、福島県、富山県、愛知県、岐阜県、埼玉県、沖縄県)詳細は別添 資料 1 参照

令和5年5月8日より COVID-19 感染動向把握の方式が全数から定点把握への移行に伴い、下水中のウイルス量と定点データと比較し地域の感染動向の把握方法を検討する。

解析に用いた下水中ウイルス量と疫学データ

令和5年第71回厚生科学審議会感染症部会*では患者サーベイランスによる COVID-19 発生動向は全数と定点把握が同様のトレンドを示していること、一方、下水サーベイランスでも患者報告数と下水中のウイルスゲノム量の間に高い相関を示すことが報告されている。

なお検査手法のうちリアルタイム PCR による測定法は各自治体で異なり単純比較が難しいため、CDC-N1N2 領域のプライマー・プローブを用いて測定した地方衛生研究所(福島県、富山県、愛知県、岐阜県、埼玉県、沖縄県)の下水中のウイルス量(GC/L)を用いた。

比較する疫学データは処理区の人口別下水道中のウイルスゲノム量と採水日に対応する患者報告週の定点あたり報告数と比較

した。なお下水処理区が複数の保健所管轄にまたがる場合は、各保健所管轄内の定点医療機関数の総和を分母とし、各保健所への患者報告数の総数を分子として下水処理場流域のウイルスゲノム量と比較している。
調査期間

福島県、岐阜県、愛知県、富山県：令和 5 年 19 週、埼玉県、沖縄県：令和 5 年 35 週からとした（最長 2024 年第 7 週までを解析対象とした）。

＊「新型コロナウイルス感染症に関する 今後の患者の発生動向等の把握方法について」 第 71 回厚生科学審議会感染症部会

https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_30863.htm

↓

イ．感染症流行予測事業に向けた「感染動向解析ツール」の作成（担当：吉田）詳細は別添資料 2 参照

令和 6 年度に SARS-CoV-2 下水サーベイランスが感染症流行予測調査事業に組み込まれる方針であることを踏まえ、下水中の SARS-CoV-2 濃度のデータと定点当たり報告数等の疫学データを用いて、データ整理および加工を実施できる「感染動向解析ツール」開発、マニュアル作成をエム・アール・アイ リサーチアソシエイツ株式会社に委託した。

（４）数理モデルを用いた下水ウイルス量と感染者数の双方向予測研究（担当：佐々木）詳細は分担研究報告書参照

首都圏 A 自治体の週別下水中ウイルス濃度測定データと、同自治体による新型コロナ陽性日別報告数データを用いて、下水ウイルス濃度から地域の感染動向を予測する数理モデルを構築し、データ入力と予測結果の解釈が容易に行えるウェブアプリケーションを開発し、ウェブ上で運用・公開する。

（５）同一処理区内にて異なる手法で測定

された下水中ウイルス変動量の比較、検討（担当：吉田）詳細は別添資料 3 参照

国内 2 か所の下水処理場にて、令和 5 年 10 月より週 2 回採水を 26 週にわたり実施。沈殿物抽出法と EPISENS 法（A 地点）、ポリエチレングリコール沈殿法（B 地点）によるウイルス測定結果を比較する。定点当たり報告数と下水中ウイルス量の測定結果を時系列で整理し、感染動向把握の頑強性を検証する。検査はそれぞれ民間検査事業者に委託、得られた検査結果はエム・アール・アイ リサーチアソシエイツ株式会社に解析を委託した。

（６）新たに調査を開始する地方衛生研究所の検査体制の構築（担当：吉田、沖縄県、埼玉県）

下水サーベイランスは下水固有の要因に考慮した検査体制を検討する必要性が認められている。今般、令和 6 年度からの SARS-CoV-2 に関して感染症流行予測調査事業への組み込みに備え、新たに下水中のウイルス調査を開始する 2 か所の地方衛生研究所に対し、速やかに調査を開始すべく検査体制の要件を検討した。なお 2 自治体の調査は国土交通省との連携により、採水輸送は国土交通省、検査は厚生労働省が担当し、本研究班が検査体制構築の支援を行った。

2．下水処理場及び施設排水を対象とした下水中の複数種ウイルス等同時検査手法の研究

（１）環境中の複数種ウイルス検出系の研究（担当：喜多村）詳細は分担研究報告書参照

ア．市販の SARS-CoV-2 & Flu ダイレクト PCR 検出キットを用いて、マルチプレックス RT-qPCR の条件検討を行った。

イ．SARS-CoV-2 他複数のウイルスゲノム配列を搭載した人工的な疑似ウイルス粒子である VLP-RNA を用いた環境表面拭き取り検体を作成し、モバイル型リア

リアルタイム PCR 機 PicoGene による検出を検討した。

(2) 下水処理場を調査定点とした複数種ウイルス同時検出系の検討

地方衛生研究所の協力を得て環境水中のポリオウイルス検査手法を基盤とし以下の項目を検討する。

A. 下水より抽出した核酸を用いた複数病原体の同時検出系の検討(担当: 濱崎、吉田) 詳細は分担研究報告書参照

国内の病原体サーベイランスで比較的良好に検出される呼吸器、腸管系感染症の代表的な起因ウイルスを選定し、陽性コントロール(プール)を合成するとともに、各病原体に対するプライマー及びプローブを PCR プレートへ固相化(TrueMark Custom Plate、サーモフィッシャー社)各パネルを用いた測定は 2 step リアルタイム PCR にて各地方衛生研究所で行った。

I. リアルタイム PCR 阻害物質を効率的に除去する濃縮方法の比較検討(担当: 研究協力者 小澤) 資料 4 参照

下水中の病原体ゲノム定量値への影響を評価するため、Virus Like Particle (VLP) 及び濃度既知の商用 RNA を用いて、抽出 RNA の回収率及び PCR 効率を確認した。

(3) 複数病原体を対象とした施設排水調査手法の検討(担当: 吉田) 資料 5 参照

先行研究で実施した施設排水中の SARS-CoV-2 調査を基盤とし高齢者介護施設でニーズの高い季節性インフルエンザウイルス、ノロウイルス、レジオネラ菌など複数病原体の同時検出系を検討した。先行研究と同様、調査はトラップ法(5 か所)、グラブ法(1 か所)により採水を行い、1 か所では職員用洗面台から拭き取り検査を行った。トラップ法は採水用コットンを汚水桝に一晩留置後、約 100ml 回収、冷凍下で検査施設

まで輸送した。ダイレクトキャプチャー法(Promega Wizard Enviro TNA Kit, A2991)により水試料 80ml より 40 µl の RNA を得た。得られた RNA は異なる 2 種類の検査手法を用いて結果を比較した。即ち インフルエンザ A/B・SARS-CoV-2 同時検査(SARS-CoV-2 & Flu ダイレクト PCR 検出キット、タカラバイオ、既製品)、SARS-CoV-2、インフルエンザ A/B、ノロウイルス G1/G2、肺炎球菌、レジオネラ菌同時検査(TrueMark Custom Plates、サーモフィッシャー、カスタム品)によって病原体ゲノム検出を行った。なお は原液 RNA を用いた 1step 法、 は RNA を 1/2 希釈した 2-step 法により測定した。コントロールは はキット付属。 はプレートに含まれる病原体を対象としたカスタム陽性コントロール。反応条件は処理場調査(2) A で検討した各種病原体別リアルタイム PCR 検出条件に準じて、逆転写後 TaqPath BactoPure Microbial Detection Master Mix (サーモフィッシャー)を用いて、10 µl/ウェルで反応を行った(別添 資料)。検査は北里環境科学センターへ委託した。

C. 結果

1. 下水中の SARS-CoV-2 量等の活用に関する研究

(1) 下水中ウイルス量と感染者数の解析結果の公表に向けた課題整理(担当: 吉田) 調査地点の情報公開について

国土交通省、厚生労働省を通じて 16 自治体にヒアリングを行ったところ、自治体名と処理場名の公開について以下の結果を得た。

- ・自治体名及び採水した下水処理場名のいずれも公表可能: 9 自治体
- ・自治体名のみ公表可能: 7 自治体

なお結果公開にあたりウェブサイトには閲覧者からの質疑の窓口(研究班)を明記することとした。

公表の内容について

自治体の調査対象の処理区の人口、保健所管轄の人口、調査手法(採水量、採水頻度、濃縮方法、リアルタイム PCR 法など)検査結果の補正の手法(PMMoV,水量補正など)は各々異なっていることを踏まえ、公表情報は下水中のウイルス量(GC/L)と処理場を含む保健所管轄の定点あたり報告数を比較した未加工データをエクセルと図で示すこととした。これらのデータは利用者がさまざまな手法で2次的に解析することを想定しダウンロード可能とした。

公表時期

自治体と公表内容について調整を行いつつ、下水サーベイランス調査結果を令和5年9月より、順次ウェブサイトを通じて公開を開始した(月1回、月末を原則)。

(2) 下水中のコロナウイルス量と感染者数の比較解析(担当:神垣)詳細は分担研究報告書参照

下水中のコロナウイルス RNA 量を 10^3 、 $10^{3.5}$ 、 10^4 、 10^5 コピー数/L の4つの値を閾値として設定、自治体からの報告データを用いて検討したところ、その感度、特異度および internal likelihood ratio (ILR) を求めた結果、ILR が中等度変化を示したのは、 1×10^5 コピー/L を閾値と設定した場合であり、感度および特異度どちらかが偏っていない条件では変化なしという結果となった。

(3) 全数から定点移行後の下水中ウイルスと感染動向把握の方法

ア．地方衛生研究所6か所で実施した調査結果(担当:吉田、福島県、富山県、愛知県、岐阜県、埼玉県、沖縄県)詳細は別添資料1参照

令和5年5月以降の調査の結果を処理人口サイズごとに結果を分類し(区分1: ~100,000人なし、区分2:100,001~200,000人 福島県、区分3:200,001~500,000人 富山県、岐阜県、沖縄県、区分4:500,001~1,000,000人 愛知県、区分5:1,000,001

人~埼玉県)検出量と定点あたり報告数の増減を比較したところ、増減傾向が一致、不一致の自治体が見られた。

イ．感染症流行予測事業に向けた「感染動向解析ツール」の作成(担当:吉田)詳細は別添資料2参照

研究班を構成する地方衛生研究所協力者及び研究班以外に令和6年度感染症流行予測調査事業に参加する予定の地方衛生研究所を対象に、作成した感染動向解析ツールを配布しウェブ説明会を企画した。説明会は新たに作成したマニュアルを用いて計4回(令和6年2月14,16日、3月26日同日2回)開催した。

(4) 数理モデルを用いた下水ウイルス量と感染者数の双方向予測研究(担当:佐々木)詳細は分担研究報告書参照

モデルを用いた流行予測値と、自治体における COVID-19 患者数(対数)とは高い適合性を示した。パラメータのフィッティングにより下水でのウイルス濃度には口腔分泌物が大きく寄与していることが示唆された。また集水域人口10万人当たり一人の感染者により、下水中の RNA 濃度は検出限界(400GC/L)を大きく超える1600 GC/L だけ上昇すると推定された。

(5) 同一処理区内にて異なる手法で測定された下水中ウイルス変動量の比較、検討(担当:吉田)詳細は別添資料3参照

本分析結果により、検査手法、増幅対象領域によって検出結果には一定のばらつきが見られた。手法が異なっても感染動向の把握には活用可能である一方、絶対定量ではなく、地域ごとの水平比較は定性的な評価(増減のみ)が適当と考えられる。

(6) 新たに調査を開始する地方衛生研究所の検査体制の構築(担当:吉田、沖縄県、埼玉県)

令和5年5月から6月にかけて沖縄県、

埼玉県における下水サーベイランスの実施に向けた準備が開始され、国土交通省と厚生労働省連携調査における地方自治体との役割分担がおおむね整理された。同年 7 月から沖縄県衛生環境研究所、埼玉県衛生研究所が研究班に協力者として参加することとなり、調査開始に向けウェブ会議等を通じ、採水地点の選定、採水法、採水量、輸送法、下水中の RNA 精製法、リアルタイム PCR 法、内部精度管理の方法など、調査フローの工程の説明、討議、加えて必要な消耗品の提供を行った。国土交通省との連携調査の下、同年 9 月には沖縄県と埼玉県で採水が開始され、下水試料を用いた検査系の検討が行われ、同年 10 月から調査結果の公表を開始した。

2. 下水処理場及び施設排水を対象とした下水中の複数種ウイルス等同時検査手法の研究

(1) 環境中の複数種ウイルス検出系の研究(担当：喜多村)詳細は分担研究報告書参照

- I 過剰量 (50,000 copies/reaction) の SARS-CoV-2 RNA 存在下でも 5 copies/reaction のインフルエンザウイルス A/B RNA が検出可能。しかし RNA 標準物質の凍結溶解繰り返しによるばらつきは逆転写反応時間を伸ばすことで改善が認められた。
- I 疑似ウイルス粒子を用いた環境表面拭き取り実験では、抽出試薬を使う簡易抽出法に比べて直接検出法で高い検出感度を得た。

(2) 下水処理場を調査定点とした複数種ウイルス同時検出系の検討

ア. 下水濃縮産物より抽出した核酸を用いた複数病原体の同時検出系の検討(担当：濱崎、吉田)詳細は分担研究報告書参照

カスタムで作成したパネルの評価を行ったところ、呼吸器感染症の原因ウイルスの

うち、インフルエンザウイルス、RS ウイルス、パラインフルエンザウイルスの 3 種類の病原体は、ほとんどの地方衛生研究所で検出することができなかった。ライノウイルス、ヒトコロナウイルス、パレコウイルスについては、比較的よく検出することができた。

腸管感染症の原因ウイルスについては、ロタウイルス以外で効率よく検出することができた。

イ. リアルタイム PCR 阻害物質を効率的に除去する濃縮方法の比較検討(担当：研究協力者 小澤)資料 4 参照

- I 下水沈殿物の VLP 由来 RNA 抽出では概ね 6-15% の回収率であった。下水試料間で約 2-3 倍の差が存在した。
- I Spike-In Control RNA を用いた PCR 効率率は 11-40% であった。下水試料間で約 4 倍の差が存在した。

(3) 複数病原体を対象とした施設排水調査手法の検討(担当：吉田)資料 5 参照

5 施設から採取した延べ 48 検体(下水 40、ふき取り 8 検体)から、の検査では下水由来のみ 10 検体が SARS-CoV-2 陽性、インフルエンザウイルスはすべて陰性であった。の検査ではレジオネラ属検出が 1 検体、ノロウイルス G1/G2 が 5 検体から検出され、いずれも下水由来であった。SARS-CoV-2 は検出されなかった。

D. 考察

1. 下水中の SARS-CoV-2 量等の活用に関する研究

(1) 下水中ウイルス量と感染者数の解析結果の公表に向けた課題整理(担当：吉田)

令和 5 年 5 月 8 日から COVID-19 の感染症法における位置づけが変更され、令和 6 年度には感染症流行予測調査事業として SARS-CoV-2 下水サーベイランスが加わることとなった。先行研究でも示されたように

本調査は下水固有の要因が測定結果に影響するため、患者サーベイランスの補完的な情報として活用されることが期待されている。

公表内容について

内閣官房実証事業による下水処理場報告書*でも指摘のあるように、下水サーベイランス結果の解釈は専門的な知識が必要なため、普及のためにはよりわかりやすく発信する必要がある。自治体よりヒアリングの結果、さまざまな情報を含めて公開を期待する意見もあったが、下水調査に付帯する情報(水量、水温など)の入手アクセスの状況は自治体により異なるため、ミニマムな調査結果(下水中のウイルスゲノム量と定点あたり報告数など)に集約し公開することとした。引き続き自治体側との対話を通じて発信する内容については検討していく必要がある。

*内閣感染症危機管理統括庁「下水サーベイランス」

<https://www.caicm.go.jp/action/survey/surveillance.html>

情報発信の方法について

令和5年度の下水サーベイランス調査結果は研究班が運営するウェブサイトを通じて公開してきた。令和6年度より感染症流行予測調査事業として地方衛生研究所による調査が実施されるが、公表内容、ウェブサイト運営方法は検討すべき課題があるため自治体を含む関係者間で引き続き検討することが適当である。

(2) 下水中のコロナウイルス量と感染者数の比較解析(担当:神垣)詳細は分担研究報告書参照

下水サーベイランスは、測定系における影響、患者サーベイランスとは違う側面を十分に理解した上でデータを解釈する必要があると考えられる。下水中のウイルスコピー数をサーベイランスの閾値として利用

を検討するため、特定のウイルスコピー数を閾値として設定したシグナルとしての感度・特異度を検討した結果、ウイルスコピー数が 1×10^5 コピー/Lという非常に大きい状況でなければ、少なくとも人口10万人あたり100人以下の確率が高くなることに寄与すること、あるいは 1×10^5 コピー/Lという非常に大きい状況であれば、少なくとも人口10万人あたり300人以上の確率が高くなることに寄与することが明らかとなった。

(3) 全数から定点移行後の下水中ウイルスと感染動向把握の方法

ア・地方衛生研究所6か所で実施した調査結果(担当:吉田、福島県、富山県、愛知県、岐阜県、埼玉県、沖縄県)詳細は別添資料1参照

令和4年度内閣官房実証事業による下水サーベイランスの検証時、新型コロナウイルス感染症は全数把握方式であった。報告書によれば、処理人口が大きい場合、感染傾向を把握できる可能性が示されていた。定点移行後の本分析では定点あたり報告数と比較することになったが実証事業と同様の傾向が認められたものの、処理場ごとに結果が異なることも明らかとなった。下水固有の要因、検査系や、感染者把握状況(処理区と保健所管轄の関係)などが影響している可能性もあり、継続的な調査による比較検討が必要である。現時点では定点サーベイランスの補完的な情報として用いるのが適当である。

イ・感染症流行予測事業に向けた「感染動向解析ツール」の作成 詳細は別添資料2参照

感染動向把握ツールは下水中のウイルス量と定点あたり報告数のデータを整理し視覚化するツールであるが、今後もユーザーの意見を反映しつつ改修を行う必要がある。

(4) 数理モデルを用いた下水ウイルス量

と感染者数の双方向予測研究（担当：佐々木）詳細は分担研究報告書参照

下水中のウイルス RNA 濃度センサスと数理モデルの結合により、時間遅れが少なく、検出感度の高い高精度の流行予測が行えることが示唆された。

また環境水中のウイルスゲノム濃度モニタリングが、無症候性感染の割合が高い COVID-19 を含む多様なウイルス感染症流行の規模を推定するために有用であることを示した。

（５）同一処理区内にて異なる手法で測定された下水中ウイルス変動量の比較、検討（担当：吉田）詳細は別添資料 3 参照

下水サーベイランスによる新型コロナウイルス感染症の感染動向の把握の上では、各検査手法の選定にあたって検出率やコスト、検出までに要する時間等を総合的に判断する必要がある。また流行している変異株のゲノム情報と対比させつつ、総合的に検討をした上で用いる手法を選択する必要がある。

このように検査手法が異なる調査でも感染動向のトレンド把握には一定の頑健性が確認できたが、結果の信頼性を担保するためには検査機関ごとにインハウスの精度管理が必要であると考えられる。

（６）新たに調査を開始する地方衛生研究所の検査体制の構築（担当：吉田、沖縄県、埼玉県）

令和 5 年 5 月に調査に向けた準備が開始、下水調査に必要な関係機関との調整を踏まえ、採水及び試行的な調査を開始したのは同年 9 月である。このように下水調査のプロセスは関係機関の調整、及び採水、輸送、検査体制の確立、結果の報告、公表、まで運営面、技術面で複雑な要素を含む。令和 6 年度から感染症流行予測調査事業へ SARS-CoV-2 下水サーベイランスが新たに加わることとなった。SARS-CoV-2 下水サーベイル

ンスの技術面は実施要領に示されるが、新たに調査を開始する地方衛生研究所を対象とした調査体制構築のためのガイダンス作成が望まれる。

２．下水処理場及び施設排水を対象とした下水中の複数種ウイルス等同時検査手法の研究

（１）環境中の複数種ウイルス検出系の研究（担当：喜多村）詳細は分担研究報告書参照

- Ⅰ マルチプレックス RT-qPCR による複数種ウイルスの同時検出は、定期的に下水検査を行う機関において、コスト削減や検査時間の効率化が見込まれる。
- Ⅰ VLP-RNA はカスタム塩基配列が搭載可能であり、下水検体や環境表面検体からのウイルス検出実験において、ポジティブコントロール、精度管理への活用が可能である。

（２）下水処理場を調査定点とした複数種ウイルス同時検出系の検討

ア．下水濃縮産物より抽出した核酸を用いた複数病原体の同時検出系の検討（担当：濱崎、吉田）詳細は分担研究報告書参照

今回我々は、1 枚のリアルタイム PCR プレートで 6 種類のウイルスの定量が可能で、1 種類のコントロール試薬で各ウイルスについて定量できるように簡便な検査系を作成することができた。しかしパネル測定に用いた下水検体を採取した時期に、感染症発生動向調査ではインフルエンザウイルス等呼吸器ウイルスが多く報告されているが、流入水からはほとんど検出することができなかった。これらのウイルスは流入水中に排出されるウイルス量が少ないため、検出することが困難と考えられる。なお今回使用したプライマー、プローブの配列情報は公開されていないことから、別のプライマー、プローブを用いた検証も必要と考えられる。

イ．リアルタイム PCR 阻害物質を効率的に除去する濃縮方法の比較検討（担当：研究協力者 小澤）資料 4 参照

下水試料ごとに VLP 回収率、RT-PCR 反応効率とも変動し、かつ連動しているわけではないため、下水試料ごとに抽出 RNA の質を評価することが、下水を用いた病原体ゲノムサーベイランスの精度管理には必要であると考えられた。

（３）複数病原体を対象とした施設排水調査手法の検討（担当：吉田）資料 5 参照

高齢者施設では SARS-CoV-2 以外にもノロウイルスなどの感染対策が求められる。このため施設単位で複数の病原体ゲノム検査系の検討を行ったが、感度に関しては検査系で異なることが判明した。本研究では主に下水のみの検査であるため、検査の感度特異度を評価するためには更なる検討が必要である。

E．結論

1. 下水中の SARS-CoV-2 量等の活用に関する研究

（１）下水中ウイルス量と感染者数の解析結果の公表に向けた課題整理（担当：吉田）

令和 5 年度は国土交通省、厚生労働省連携による下水サーベイランスによる調査結果を研究班が運営するウェブサイトで定期的に公表を開始したが、発信内容や運営方法は引き続き検討する必要性がある。

（２）下水中のコロナウイルス量と感染者数の比較解析（担当：神垣）

下水中のウイルスコピー数をサーベイランスの閾値として利用する検討を実施した。実証研究の 11 自治体のデータを用いて検討したところ、シグナルとしては 1×10^5 がもっとも尤度が高くなり、人口 10 万人当たりの報告数が 300 人以上あるいは 100 人以下である確率が高いことがわかった。

（３）全数から定点移行後の下水中ウイルスと感染動向把握の方法

ア．地方衛生研究所 6 か所で行った調査結果（担当：吉田、福島県、富山県、愛知県、岐阜県、埼玉県、沖縄県）

定点移行後の定点あたり報告数と下水中のウイルス量の増減を比較したが処理場ごとに増減傾向が異なるため、下水固有の要因が影響している可能性がある。現時点は下水サーベイランスの結果は定点サーベイランスの補完的な役割として用いるべきである。

イ．感染症流行予測事業に向けた「感染動向解析ツール」の作成

下水中ウイルス量と定点あたり報告数データを整理し、視覚化する感染動向解析ツールを地方衛生研究所に配布した。

（４）数理モデルを用いた下水ウイルス量と感染者数の双方向予測研究（担当：佐々木）

下水中ウイルス濃度を用いて処理域での SARS-CoV-2 の流行を予測する数理疫学モデルを開発した。このモデルを 2020 年以降の A 自治体での下水中ウイルス濃度時系列データに適用する事により、A 自治体での流行の高精度の予測が可能になった。

（５）同一処理区内にて異なる手法で測定された下水中ウイルス変動量の比較、検討（担当：吉田）

検査手法が異なる調査でも、感染動向のトレンド把握には一定の頑健性が確認できたが、結果の信頼性を担保するためには検査機関毎にインハウスの精度管理が必要である。

（６）新たに調査を開始する地方衛生研究所の検査体制の構築（担当：吉田、沖縄県、埼玉県）

地方衛生研究所を対象とした新たに下水

サーベイランスを行うため調査体制構築のためのガイドンス作成が今後の課題である。

2. 下水処理場及び施設排水を対象とした下水中の複数種ウイルス等同時検査手法の研究

(1) 環境中の複数種ウイルス検出系の研究(担当:喜多村)

マルチプレックス RT-qPCR の条件検討や、複数種ウイルス配列を搭載した標準物質の評価を行った結果、下水など環境検体から複数種のウイルスを検出する際の実験条件や内部精度管理の基盤となりうる。

(2) 下水処理場を調査定点とした複数種ウイルス同時検出系の検討

A. 下水濃縮産物より抽出した核酸を用いた複数病原体の同時検出系の検討(担当:濱崎、吉田)

2 step リアルタイム PCR による呼吸器感染症、腸管感染症の原因ウイルスを対象としたカスタムパネルを評価した。1種類のコントロール試薬で複数ウイルスについて定量できるように簡便な検査系を作成することができた。呼吸器パネルは更なる検討が必要である。

イ. リアルタイム PCR 阻害物質を効率的に除去する濃縮方法の比較検討(担当:研究協力者 小澤)

下水沈殿物を用いた病原体ゲノム定量値は RNA 抽出効率、阻害物質等の影響を受けるため、RT-PCR 効率及び RNA 抽出効率をもとに測定値の精度管理を行う手法を検討した。

(3) 複数病原体を対象とした施設排水調査手法の検討(担当:吉田)

施設排水調査により複数病原体ゲノムの検査が可能であることを示したが、検査系の感度特異度の検討が今後の課題である。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

論文発表

吉田 弘

- (1) 吉田弘,喜多村晃一,梁明秀 SARS-CoV-2の下水サーベイランス 感染制御と予防衛生 7(1),42-47, 2023
- (2) 坂 恭平, 岩手県環境保健研究センター, 北川和寛, 藤沼裕希, 小川泰卓, 長島真美, 小澤広規, 愛知県衛生研究所, 葛口 剛, 板持雅恵, 千葉翔子, 藤本泰之, 木田浩司, 濱崎光宏, 喜多村晃一, 吉田弘 下水中の新型コロナウイルス調査(NIJIs)プロジェクトとポリオ環境水サーベイランスについて 病原微生物検出情報 44(7) 103-105 2023 年 7 月
- (3) Kitamura.K, Minami Kikuchi-Ueno.M, Yoshida.H., Rapid and sensitive on-site detection of SARS-CoV-2 RNA from environmental surfaces using portable laboratory devices. Microbiology Spectrum, 2023;11(6):e0045623. doi:10.1128/spectrum.00456-2

学会発表

- (1) 吉田弘 下水中のウイルス調査からわかったこと - 施設内感染対策への適応にむけて HU 無料ウェブセミナー 2023 年 4 月 12 日 東京
- (2) 紺野晶裕, 大曾根誠, 喜多村晃一, 小澤広規, 吉田弘, 大久保一郎 感染症サーベイにおける流入下水の活用について 第 43 回衛生微生物技術協議会 2023 年 7 月 6 日 衛生微生物技術協議会
- (3) 吉田弘 下水を用いた感染症サーベイランスと感染管理 第 38 回日本環境感染学会総会・学術集会ランチョンセミナー 2023 年 7 月 22 日 日本環境感染学会
- (4) 吉田弘, 上田真稔, 服部泰臣, 横江公美

高齢者介護施設排水中の新型コロナウイルス調査について(第2報) 第82回日本公衆衛生学会総会 令和5年10月31日 - 11月2日、つくば

- (5) 喜多村晃一、吉田弘 環境表面の新型コロナウイルスをオンサイトで検出する手法の検討 第82回日本公衆衛生学会総会 令和5年10月31日 - 11月2日、つくば
- (6) 伊藤雅、皆川洋子、安井善宏、吉田弘 愛知県における流入下水からの新型コロナウイルス遺伝子の検出について 第82回日本公衆衛生学会総会 令和5年10月31日 - 11月2日、つくば
- (7) 葛口剛、喜多村晃一、吉田弘 岐阜県における流入下水からの新型コロナウイルス遺伝子検出状況 第82回日本公衆衛生学会総会 令和5年10月31日 - 11月2日、つくば
- (8) 小澤広規、吉田弘、大久保一郎 横浜市における下水中の新型コロナウイルスモニタリングについて(第3報) 第82回日本公衆衛生学会総会 令和5年10月31日 - 11月2日、つくば
- (9) 古屋花、黒岩裕太、吉田弘、佐々木顕 新型コロナウイルス感染動態把握のための感染者数推計ツールの作成 第82回日本公衆衛生学会総会 令和5年10月31日 - 11月2日、つくば
- (10) 北川和寛、喜多村晃一、金成由美子、末永美知子、吉田弘 ポリオ環境水サーベイランスを活用した新型コロナウイルス及びエンテロウイルスの監視 第82回日本公衆衛生学会総会 令和5年10月31日 - 11月2日、つくば
- (11) 大久保一郎、吉田弘、永田紀子、江原勇登、眞榮城徳之 帖佐徹 上田真稔、服部泰臣 自由集会6「環境水中の新型コロナウイルス調査の今後」 第82回日本公衆衛生学会総会 令和5年10月31日 - 11月2日、つくば
- (12) 吉田弘 環境水サーベイランスに

よって得られた病原体情報の活用について 第13回公衆衛生情報研究部会特別講演 令和5年11月22日 千葉市

喜多村 晃一

論文発表

- (1) 吉田弘、喜多村晃一、梁明秀 SARS-CoV-2の下水サーベイランス 感染制御と予防衛生 7(1),42-47, 2023
- (2) 坂 恭平, 岩手県環境保健研究センター, 北川和寛, 藤沼裕希, 小川泰卓, 長島真美, 小澤広規, 愛知県衛生研究所, 葛口 剛, 板持雅恵, 千葉翔子, 藤本泰之, 木田浩司, 濱崎光宏, 喜多村晃一, 吉田弘 下水中の新型コロナウイルス調査(NIJIs)プロジェクトとポリオ環境水サーベイランスについて 病原微生物検出情報 44(7) 103-105 2023年7月
- (3) Kitamura.K, Minami Kikuchi-Ueno.M, Yoshida.H., Rapid and sensitive on-site detection of SARS-CoV-2 RNA from environmental surfaces using portable laboratory devices. Microbiology Spectrum, 2023;11(6):e0045623. doi:10.1128/spectrum.00456-23

学会発表

- (1) 紺野晶裕, 大曾根誠, 喜多村晃一, 小澤広規, 吉田弘, 大久保一郎 感染症サーベイにおける流入下水の活用について 第43回衛生微生物技術協議会 2023年7月6日 衛生微生物技術協議会
- (2) 喜多村晃一、吉田弘 環境表面の新型コロナウイルスをオンサイトで検出する手法の検討 第82回日本公衆衛生学会総会 令和5年10月31日 - 11月2日、つくば
- (3) 葛口剛、喜多村晃一、吉田弘 岐阜県における流入下水からの新型コロナウイルス遺伝子検出状況 第82回日本公衆衛生学会総会 令和5年10月31日 -

11月2日、つくば

- (4) 北川和寛、喜多村晃一、金成由美子、末永美知子、吉田弘 ポリオ環境水サーベイランスを活用した新型コロナウイルス及びエンテロウイルスの監視 第82回日本公衆衛生学会総会 令和5年10月31日 - 11月2日、つくば

佐々木 顕

学会発表

- (1) 佐々木顕、数理疫学モデルを用いた環境水ウイルス濃度からの流行予測、第82回公衆衛生学会、2023年、つくば
(2) 古屋花、黒岩裕太、吉田弘、佐々木顕 新型コロナウイルス感染動態把握のための感染者数推計ツールの作成 第82回日本公衆衛生学会総会 令和5年10月31日 - 11月2日、つくば

神垣 太郎

特になし

濱崎 光宏

坂 恭平，岩手県環境保健研究センター，北川和寛，藤沼裕希，小川泰卓，長島真美，小澤広規，愛知県衛生研究所，葛口 剛，板持雅恵，千葉翔子，藤本泰之，木田浩司，濱崎光宏，喜多村晃一，吉田弘 下水中の新型コ

ロウイルス調査(NIJIs)プロジェクトとポリオ環境水サーベイランスについて 病原微生物検出情報 44(7) 103-105 2023年7月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

- ┆ 本研究の調査結果はウェブページにて公開している。

<https://nijis.jp/>

厚生労働省「新型コロナウイルス感染症の国内発生状況等について*」へリンク

*<https://www.mhlw.go.jp/stf/covid-19/kokunainohasseijoukyou.html>

- ┆ 本研究で得られた成果を踏まえて新型コロナウイルス下水サーベイランスは令和6年度感染症流行予測調査事業に新たに感染源調査として追加された。

- ┆ 下水中のウイルス情報を用いたウェブ解析アプリケーション

COVIVIS

(<https://covivis.soken.ac.jp>)

を公開。