

大腸菌食中毒検査における新しい検査法の導入！ ～血清型別 PCR 法について～

さいたま市健康科学研究センター生活科学課

○小田切正昭 加藤直樹 曾根美紀 土屋彰彦 近藤貴英

1. 緒言

大腸菌は、ヒトの腸管内に存在する常在菌の 1 つで、通常は病原性を持たないが、一部に病原因子を持つものが存在する。腸管内で病気を引き起こす大腸菌は、下痢原性大腸菌と呼ばれており、下痢原性大腸菌による食中毒事例が発生した場合、原因とされる分離株に対して病原遺伝子の特定と併せて免疫血清法による血清型別試験が行われている。従来、当センターにおける血清型別試験は、国内メーカーから販売されている病原大腸菌免疫血清（市販血清）を用いて実施していた。この市販血清に含まれる血清型が限られるため、対象となる O 血清群は 50 種類、H 型は 22 種類にすぎなかった。そのため、病原遺伝子を保有する大腸菌の大部分は、市販血清に型別することができず、対象とする大腸菌の種類によっては、多くの分離株で O 型別不能 (O serogroup untypeable; OUT) あるいは H 型非運動性 (H non-motile ; HNM) と判定されていた。その対応策として、広域な O 群にも対応できる *E. coli* O-genotyping PCR (Og-typing PCR) および *E. coli* H-genotyping PCR (Hg-typing PCR) が開発された¹⁾。Og-typing PCR は、O 抗原の合成にかかわる O 抗原合成遺伝子群を標的とした 162 種類の遺伝子型 (Og 型) を判定できる 20 種類のマルチプレックス PCR キット²⁾である。Hg-typing PCR は、H 型に対応した 51 種類の遺伝子型 (Hg 型) を判定できる 10 種類のマルチプレックス PCR キット³⁾である。

今回、我々は、血清型別試験における新しい検査法である血清型別 PCR 法を導入するために、センターで分離された腸管出血性大腸菌 (EHEC) 株を用いて、その有効性を検討したので報告する。

2. 材料および方法

表 1. Og-typing PCR プライマー

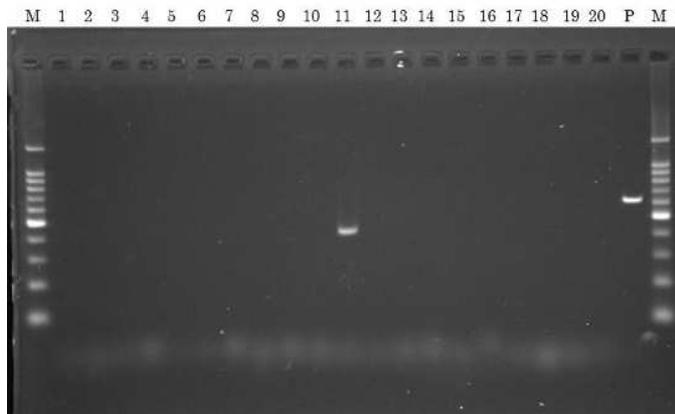
(1) 試料	プライマー		Og型																
	MP-1	MP-2	Og165	Og103	Og111	Og157	Og121	Og145	Og112ac	Og148	Og158	Og114	Og144	Og159	Og169				
当センターで分離された EHEC 株のうち、免疫血清法で判定した保存菌株 OUT:HUT の 5 株を DHL 寒天培地に塗抹した。発育した 2 コロニーずつを釣菌し、普通寒天培地に接種した 10 株を対象とした。	MP-3	MP-4	Og1	Og146	Og119	Og142	Og167	Og74	Og125	Og63	Og6	Og126	Og143	Og27	Og168	Og136			
	MP-5	MP-6	Og78	Og128	Og15	Og166	Og161	Og29	Og55	Og91	Og86	Og152	Og8	Og115	Og25				
	MP-7	MP-8	OgGp1	OgGp9	OgGp11	OgGp12	OgGp4	OgGp3	OgGp13	OgGp2	Og9	Og41	Og33	Og108	Og174	Og60	Og54	Og80	Og92
	MP-9	MP-10	Og98	Og96	Og59	Og69	Og82	Og177	Og71	Og95	Og98	Og96	Og59	Og69	Og82	Og177	Og71	Og95	Og93
	MP-11	MP-12	Og172	Og88	Og37	OgGp8	Og23	Og163	Og170	Og99	Og150	Og30	Og84	Og183	Og75	Og113	Og160	Og138	Og132
	MP-13	MP-14	Og40	Og45	OgGp10	Og7	Og182	Og109	Og79	Og181	Og58	Og12	Og141	Og179	Og11	Og140	Og81	Og56	Og21
	MP-15	MP-16	Og43	Og187	Og180	Og173	Og110	Og147	Og120	Og185	Og102	Og38	Og64	Og51	Og61	Og70	Og35	Og34	Og97
	MP-17	MP-18	Og133	OgGp7	Og149	Og5	Og22	Og19	Og16	Og105	Og100	Og176	Og175	Og3	Og76	Og85	Og66	Og112ab	Og87
	MP-19	MP-20	Og104	Og53	Og155	OgGp14	Og32	Og65	Og154	Og131	Og184	Og48	Og39	Og10	Og28ab	OgGp5	Og36	Og156	
	普通寒天培地の		Og130	Og49	Og4	Og52	OgGp6	Og83	Og139	Og24									

菌株を熱抽出法により DNA を抽出した。PCR 反応は、DreamTaq Green Master mix (Thermo Fisher Scientific) 7.5 μ L、nuclease free water 4.74 μ L、プライマー 1.76 μ L (Og-typing PCR の MP-1 から MP-20 および Hg-typing PCR の MP-A から MP-J)、DNA テンプレート 1 μ L の計 15 μ L の

系で実施した。反応条件は、既報¹⁾に準じて行った。表1に、使用したプライマーの種類と対象となるOg型を示した。なお、PCR増幅反応液は、電気泳動法によりバンド検出の有無および増幅産物長を確認した。

3. 結果

図1に、Og-typing PCRの泳動結果を示した。1つの試料に対して、20種類のプライマーを使用しているため、20ヶ所のレーンを使用した。加えて、ポジティブコントロールとして *gyrB* 遺伝子を使用した。11番目のレーンであるMP-11の400 bpと500 bpの間に、Og113に特有



の増幅産物を認めたため、Og113と判定した。OUT:HUTの10株について、Og104:Hg7(2株)、Og113:Hg21(6株)、Og177:Hg25(2株)に分類することが可能だった。

図1. Og-typing PCRの泳動結果

4. 考察

大腸菌検査法の問題点として、血清型別試験では市販血清に含まれる対象血清型が限られているため、試験株の血清群が判定できないケースも多い。現在、大腸菌の血清型は、O血清群のO1からO188、H型のH1からH56までが定められており、O血清群とH型の組み合わせによって表される血清型は理論上1万通り近くとなる。血清型別PCR法は、この8割以上に対応できることから、十分な細分類解像度があると考えられる。過去の集団食中毒事例のうち、2011年にドイツを中心とする欧州で発生したEHECによる事例(発症者3,842名)では、患者から分離された大腸菌は、O104:H4だった。また、2020年に埼玉県で発生した下痢原性大腸菌による事例(発症者2,958名)では、患者便と共通食である海藻サラダから検出した大腸菌は、O7:H4だった。いずれのO血清型も市販血清には含まれておらず、早期に同定することが難しかったと推察される。

食中毒事案が発生した場合、初動の早期探知が遅れると、共通の汚染源の調査および特定が効果的に進まず、被害の拡大防止に遅れが生じてしまう。今回、下痢原性大腸菌の血清型別試験において、免疫血清法に代わる新しい方法として血清型別PCR法の有効性が示唆されたことから、今後は、血清型別PCR法を積極的に活用して血清群の同定を進めていきたい。このように血清型の細分類が早期に可能となることで、食中毒の原因究明および健康被害の更なる拡大防止に寄与できると考える。

5. 参考文献

- 1) Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Morita-Ishihara T, Scheutz F, Ohnishi M; Pathogenic *E. Coli* Working Group in Japan. *Escherichia coli* O-Genotyping PCR: a Comprehensive and Practical Platform for Molecular O Serogrouping. *J Clin Microbiol.* 53. 2427-2432. 2015.
- 2) 井口純. 大腸菌の血清型別PCR法. *病原微生物検出情報.* 41. 69-70. 2020.
- 3) Banjo M, Iguchi A, Seto K, Kikuchi T, Harada T, Scheutz F, Iyoda S; Pathogenic *E. coli* Working Group in Japan. *Escherichia coli* H-Genotyping PCR: a Complete and Practical Platform for Molecular H Typing. *J Clin Microbiol.* 56, e00190-18(2018).

継続指導していた多頭飼養者の死亡に伴う犬の引取り事案について

幸手保健所 ○西山徹 中塚寛之 石原誉大 西川俊成

1 はじめに

当所管内に、犬を複数回逸走させている多頭飼養者がおり、近隣住民から当所あてに複数回通報を受けていた。そのため、当所では当該飼養者に対し、10年以上にわたって適正飼養及び繁殖制限について指導を行ってきた。今般、当該飼養者が死亡し、その親族から当所あてに飼養犬の引取り依頼があった。本県では、犬猫の殺処分を減らすため、飼い主から引取りを求められた際、飼い主で終生飼養することや、終生飼養が困難な場合は自身で新しい飼い主を探す努力をするよう説諭している。しかし、本事案では、飼い主が死亡し、親族も犬を保護できないことや、犬の性格及び飼養状況を踏まえ、速やかに全頭を当所で引き取ることとした。

そこで、今後の引取り業務の参考として、本事案の詳細及び考察について報告する。

2 実施内容

(1) 引取りの経緯

依頼当初、対象は係留された中型雑種の成犬15頭とのことであったが、その後の調査で別の敷地に放し飼いの成犬4頭と子犬6頭いることが判明した。引取り経緯は下表のとおり。

<表> 引取りの経緯

日にち	概要
4月18日	飼い主の親族（相続人）から当所へ引取り依頼
4月22日	当所職員による現地調査の実施（飼養状況と個体の性格等を把握）
4月25日	引取り1回目：成犬10頭（攻撃性の高い個体を中心に引取り）
5月10日	引取り2回目：成犬6頭、子犬6頭（成犬1頭は、子犬6頭の親で放し飼い）
5月20日	引取り3回目：成犬3頭（すべて放し飼い）
引取り頭数：成犬19頭、子犬6頭（うち成犬4頭、子犬6頭は別の敷地内で放し飼い）	

(2) 飼養者への指導経緯

飼養者は、犬を複数回逸走させており、近隣からの通報で保健所でも捕獲檻の設置等により複数回捕獲を行っていた。また、繁殖制限を行っておらず、30頭前後まで増えたこともあった。そのため、過去10年以上、繁殖制限及び適正飼養について継続指導を行っていた。

3 成果、効果又は実施結果

(1) 事前調査

飼養者が経営していた会社の社員で、当該犬の世話を行っていた元従業員Aの協力のもと、現地で個々の犬の特徴や飼養状況の事前調査を行った。調査でわかった犬の配置と個体の特徴及び写真を一覧表にまとめ、引取り計画を立てた。なお、犬の個体の特徴や引取り計画については、送致先である動物指導センター（以下「センター」という。）と情報共有した。

(2) 引取りと送致

引取りは飼養場所に職員が出向いて行うこととした。また、捕獲車には一度に多くの犬を

収容できないため、表のとおり 3 回にわけて行った。なお、檻からの出入れによる犬の負担を最小限にするため、保健所に収容せず、そのまま捕獲車でセンターに送致することとした。

ア 1 回目の引取り (4 月 25 日)

他の犬が捕獲される様子を見た犬は、警戒心を増し、攻撃的になる恐れがあるため、威嚇する犬から優先的に収容した。移送檻 2 台を用い、兄弟等相性のよい犬を 3~4 頭ずついれて捕獲車に積みこんだ。さらに、3 頭を捕獲車の収容スペースに直接いれて、合計 10 頭を送致した。この日、敷地の向かい側にある別の敷地にも犬が 4 頭飼養されていることを元従業員 A から初めて知らされた。

イ 2 回目の引取り (5 月 10 日)

当日は、残りの 9 頭を引き取る予定であったが、別の敷地にいる 4 頭 (雑種中型の成犬雄 2 頭、雌 2 頭) を確認したところ、放し飼いで飼養され、かつ、雌 1 頭は子犬 (1-2 週齢) 6 頭を出産していた。そこで、急遽係留されている成犬 5 頭と子犬 6 頭及びその親犬の合計 12 頭を引き取ることにした。放し飼いされた犬 3 頭は警戒心が強く、人に近づいてこなかったため、敷地内にあった鉄柵の囲みの中に隔離することとした。そのため、餌を与える際は、毎日その囲みで行うよう元従業員 A に指示した。なお、雌が妊娠していることも懸念されたため、元従業員 A と頻繁に連絡をとって状況を確認した。

ウ 3 回目の引取り (5 月 20 日)

元従業員 A から、「放し飼いされていた犬を鉄柵の囲みに隔離することに成功したが囲みの下を掘って逃げようとしている」旨の連絡があったため、急遽現場に向かい、3 頭を収容した。収容時、3 頭は激しく抵抗した。

(3) 送致した犬について

センターに送致された犬については、同センターで一定期間観察し、馴化等を行った。その結果、15 頭の犬が動物愛護団体や個人へ譲渡され、3 頭が現在も飼い主を募集中である。また、状態が悪かった子犬 1 頭が死亡し、攻撃性が非常に高く改善の見込みがない個体及びフィラリア症に罹患し予後不良の個体の計 6 頭については、殺処分することとなった。

4 評価・効果的な事業展開に向けて

本件は、適正飼養について長年指導を行っていた飼養者が亡くなった際の対応について報告したものである。本来であれば、指導により、飼養者の責任によって適正飼養がなされるべきであり、指導に従わない場合は飼養者が処罰されることもある。一方で、現行法では、飼養者が処罰されても、飼養者の同意なく飼養動物を行政で引き取ることはできない。また、飼養者を警察が捜査する場合、警察からの依頼により、その飼養動物を一時的に行政で保護することもあるが、長期に多頭を保護する場所の確保並びに保護期間中の飼養管理コスト、ケガや病気の治療及び死亡時の対応等について、十分な整理がなされていない。令和元年に「動物の愛護及び管理に関する法律」が改正され、飼養者等に対しては、より厳しい指導が求められている。そのため、平時から警察との連携体制を構築するとともに、大型の動物や多数の動物を収容できる施設、搬送車の配備及び対応に精通した人員の配置、並びに飼養者や動物取扱業者に対する適正飼養の普及啓発をすることが重要であると考えられる。また、飼養者の処罰については、動物愛護の観点から、飼養動物の引き渡しの強制執行を含めた法的な整備が望まれる。

外国出生の多発性結核患者への支援について

埼玉県鴻巣保健所○増田真巨 荒井友美 山崎優美 岩崎みずほ 水野瑛理
正田綾 犬飼さくら 古川あけみ 霜田和徳 山川英夫

1 はじめに

当所の結核新登録患者のうち、外国出生者の割合は令和3年2.7%、令和4年15.0%と前年から大幅に増加し、今後も増加が見込まれる。今回、外国出生の多発性結核患者とその家族も含めた包括的な支援を行った。その支援について振り返り、外国出生者への対応の課題について考察したので、報告する。

2 事例概要

(1) 患者の状況

30代女性、高まん延国出身、無職、夫と子(4歳)の3人暮らし。X-1年夫と生活するため子と共に入国。本人と夫はほとんど日本語が話せない。近隣の市に日本語が堪能な義母が在住。

X年12月登録。肺結核(b II 3)・粟粒結核・脊椎結核・喉頭結核・結核性膿瘍・脳結核腫・水頭症、喀痰塗抹G5号、培養(+)、LAMP法(+)、PZA耐性あり。

(2) 診断までの経過 表1<経過>

年 月	経 過
X年7月	夜間軽度の咳嗽出現
X年11月	右胸にしこりができ、A病院を受診。胸部XPから結核の疑いあり
X年12月	B病院で肺結核と診断(喀痰塗抹G5号、LAMP法+)され、C病院に入院。抗結核薬治療開始
X+1年3月	都内のD病院に転院。胸囲結核を治療。腰痛あり、CTで脊椎カリエス、腹腔内巨大膿瘍判明
X+1年3月	都内のE病院に転院。膿瘍のドレナージ実施。4月脊椎カリエスの後方固定術を実施。気道狭窄あり抜管困難のため気管切開する。画像検査で喉頭結核、脳結核腫判明
X+1年6月	E病院を退院。気管切開した状態で自宅療養開始。訪問看護、保健所で各1回/週DOTS訪問
X+1年10月	発熱、嘔吐、頭痛、食欲不振あり、E病院に入院。脳結核腫の一部増大による水頭症あり。脳室ドレナージ、脳結核腫摘出術実施

3 実施内容と結果(対応の概要)

(1) 本人への療養支援

本人が安心して入院療養し、治療に専念できるよう定期的に病棟を訪問、通訳アプリで、コミュニケーションを図り、信頼関係を築いた。2度の転院、手術や処置、都度新たな結核が見つかり気落ちしていたが、服薬や手術によって、確実に結核が治っていることを繰り返し伝え、意欲的に闘病生活を送れるよう励ました。また、自宅に残してきた子のことを心配していたため、訪問時に子の受診や保育所入所の手続きの進捗状況を伝え不安の軽減に努めた。

退院後は、本人が安心安全に自宅療養できるよう環境調整を行った。服薬支援や体調確認のため訪問看護も導入し、2機関での訪問体制とした。本人から日本語を覚えたい、仕事がしたいとの希望があり、日本語教室の情報提供やバスの経路の確認を一緒に行う等QOLの向上も図った。

(2) 家族支援

接触者健診と発病予防を確実にを行うため、子については、医療機関の調整と初回同行受診を行った。潜在性結核感染症と診断され、1剤6か月治療となった。夫は直後・3か月後・6か月後健

診で IGRA 検査陰性、義母は 3 か月後健診で陽性となり、潜在性結核感染症にて 1 剤 6 か月の治療となった。子の支援として前半は訪問、後半はメールにて DOTS を実施し、6 か月間の内服を終了できた。また、キーパーソンである義母の負担軽減を図るため、夫にも役割を担ってもらった。

(3) 関係機関との連携

本人の入院に伴い、子の日中の保育が課題となった。家族に保育所の入所手続きを進めてもらうと共に当所から市町村の保育所主管課に事情を説明し、早期の入所を依頼、保育所には、子が結核発病を予防する内服を行っているため感染性はないことを説明し、希望通り X+1 年 3 月に入所することができた。

病状や内服状況の確認の他に、スムーズに自宅療養に移行できるよう療養環境の調整を行った。保健所から開催を依頼した退院前カンファレンスでは、脳結核腫によるけいれん発作等緊急時の対応、日常生活の留意点を確認した。また、医師から退院直後の服薬支援を頻回に行うこととバイタルサインチェックの実施についてアドバイスを受けたため、地域の訪問看護ステーションに依頼し、保健所と共にそれぞれ週 1 回、DOTS 訪問できる体制を整えた。

訪問看護ステーションと DOTS の業務委託契約を締結し、本人の退院後に顔合わせの同行訪問を行った。また、バイタルサイン、症状等を記入する「健康の記録」を作成、本人の母国語も記載し、本人、関係者間で情報共有できるツールとした。訪問看護ステーションには、月 1 回連絡し、本人の体調や家族の状況について情報交換を密に行った。

4 考察

外国出生に加えて重症の多発性結核患者という困難な状況の下、言葉の壁、病状の不安、日中の保育者不在など、様々な問題に直面しながら、その都度関係機関と連携し、本人と家族に寄り添い支援してきたことで、中断することなく治療を継続できている。

外国出生結核患者への対応を振り返り、支援に当たって重要となるポイントが明らかになった。

(1) 理解を得られるコミュニケーションの工夫：通訳者による通訳は勧告や服薬の必要性等重要な場面に使用し、通常は機械通訳を利用することが多いが、誤訳もあるため注意が必要となる。本人に心配や不安はないか問うと「大丈夫」と答えることが多かったが、聞かれた内容を十分理解していたか、本心であったのか疑問が残る。通訳アプリの誤訳等に注意しながら、具体的な項目を挙げて質問し、表出しにくい本人の気持ちを汲み取り、理解を深めることが必要と感じた。

(2) キーパーソンへの負担の軽減：唯一日本語が話せる義母に対して多くの依頼をしてしまい、義母が負担感を表出する場面があった。丁寧に状況を説明すると共に、対応への感謝を伝え、労をねぎらい、夫の協力が得られるよう調整し、負担軽減を図った。

(3) 関係機関との連携：言葉の壁により、本人・家族のみで調整等が困難なことが多く、医療機関、保育所、訪問看護等多くの関係機関と密に連携を取りながら、支援していくことが必要となる。また、本人の結核治療が終了し、保健所の関りが終了することを見据えて、今後も育児のこと等気軽に相談できる市町村保健師等への繋がりが必要不可欠と考えている。

(4) 早期受診・早期診断・早期治療が行える医療体制整備：高まん延国出身で、日本語ができず、受診するまでに時間がかかり大幅な発見の遅れに繋がった。また、脳結核腫・喉頭結核の診断は最初の肺結核の診断から 4 か月を要している。受診の遅れのみならず、診断の遅れも重症化へ繋がった可能性は否めない。外国出生者並びに医療従事者への結核に対する普及啓発の重要性を改めて感じた。本事例の対応からの学びを、今後の外国出生患者への支援に活かしていきたい。

GISによる難病患者の位置情報把握と災害時支援への活用 —NHAMsの作成—

埼玉県保健医療部疾病対策課

○星翼 飛田暢祐(現 熊谷保健所) 川西洗樹(現 北部福祉事務所)
大野加余子(現 用地課) 井桁智子 栗田知星

1 目的

元来、各県保健所では難病患者（特に人工呼吸器装着等の要電源者、要援護者）の位置情報については、紙の白地図にシールや付箋を貼る等して確認を行っていた。しかし、白地図に載せる情報がいつのものか分からず、地図が1枚しかなく所内でしか見られないこと、ハザードマップは別途見比べる必要がある等といった、紙での管理による課題に加え、令和3年5月の災害対策基本法改正により、県としては市町村からの求めに応じた迅速・正確な難病患者の情報提供体制を整えたいという課題があった。

そこでGIS（地理情報システム）を活用して、難病患者の位置情報についての的確な管理体制を整え、改めて在宅難病患者が曝されている災害リスクについて把握すると同時に、個別避難計画の重要性を認識する。

2 方法・実施内容

令和3年9月から取組を開始。予算はないため無料で使えるQGISを活用し、予め各保健所の区域や、洪水や土砂災害などの国土数値情報を取込み、重ねて表示できるように構築した。ここに、指定のExcelファイルに患者情報を入力、取込むことで患者のプロットができるようになった。同年12月にこれを各県保健所毎に分けて、令和4年度から本格始動。各所で管内の難病患者情報を取込み、位置情報と災害リスクを重ねて表示できるシステムNHAMs（ニヤムズ）としてリリースした（図1）。これによって各保健所では、人工呼吸器装着者等の在宅難病患者の位置情報等を取込み、患者一人一人にどのような災害リスクが潜んでいるか把握できるようになった。



3 成果・効果

NHAMs により県保健所で統一した情報把握と更新、データ管理によるファイル出力も可能になり、市町村への情報提供もしやすくなった。また、災害リスクと患者の位置情報が重ねて表示されることで、潜在する災害リスクが一目で分かるようになった。

各所での活用が進んできたところで、令和4年度、5年度には、保健所単位で管内市町村職員と共に図上訓練を開催する機会も得られた(図2)。

図上訓練に参加した市町村の方からは、災害に予め備えることの重要性の認識の他、要援護者名簿の作成を進めたいといった感想も聞かれ、個別避難計画の重要性の認識にもつながった。



<図2 令和4年度鴻巣保健所での訓練の様子>

4 結論

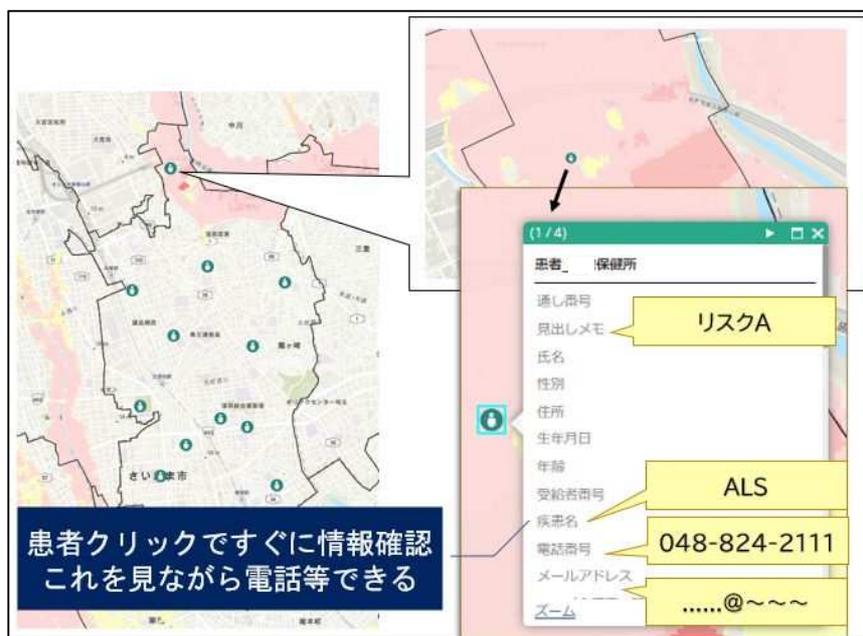
GIS を活用することで、保健所内で難病患者の位置情報を管理、把握しやすくできるだけでなく、市町村等への情報提供機会も得られやすくなった。また、NHAMs の保存領域は県のクラウドとなるため紙と違い、県庁 LAN 接続可能であればどこでも見られる状態となった。

令和5年度途中から、全庁的に埼玉県 GIS (ArcGIS) の運用も開始されたことで NHAMs も移行を開始しており、一部機能に制限があるものの情報のフィルター機能等見やすさが向上している(図3、4)。なお現時点で QGIS は地区診断にも活用可能であるため併存している。

今後もマニュアルの更新、説明会等を適宜行い、保守に努めながら、災害時に備えた訓練や情報提供等を継続的に行っていきけるようにしていきたい。



<図3 フィルター機能>



<図4 埼玉県 GIS の NHAMs 患者情報 例>