

## 細菌課

細菌課においては、府内で発生するコレラ、腸チフス、パラチフス、細菌性赤痢、腸管出血性大腸菌感染症などの腸管系感染症、溶血性レンサ球菌感染症、髄膜炎菌性髄膜炎、結核などの呼吸器系感染症について細菌学的、免疫学のおよび遺伝学的特性を解析し、感染経路の解明に活用している。平成 25 年度における 3 類感染症の発生状況は、細菌性赤痢 4 例、腸チフス 1 例、腸管出血性大腸菌感染症 34 例の届出であった。腸管出血性大腸菌感染症の発生は、1996 年 8 月に指定感染症として全数把握疾患になって以来、最も少なかった。当課へ搬入された腸管出血性大腸菌 52 株のうち、約 30%は O157 以外の血清群で、血清群が多様化する傾向が続いている。大阪府は全国一結核結核罹患率の高い地域で府市あわせて毎年約 3,000 人が結核を発症しており、当課では抗酸菌の薬剤感受性試験及び結核菌の VNTR 型別を用いた遺伝子型別調査を実施している。被験結核菌のうち抗結核薬に耐性を示す割合は 24 年度に比べ増加し、多剤耐性結核の発生数も若干増加した。感染源調査依頼においては、65 事例中 40 事例で遺伝子型が一致し、集団感染事例数は昨年度より若干増加した。百日咳を疑われる患者材料 33 検体を検査した結果、遺伝子検査で 8 検体陽性、そのうち 3 検体で百日咳菌を分離した。またレジオネラ症の検査では 27 株について菌の分離・同定・解析等を行った。

食中毒、集団下痢症などの発生においては患者材料（便、吐物）、原因食品、原因施設（ふきとり）等から原因病因物質の検出を行うとともに、汚染経路を解明している。苦情食品、有症苦情等についてもその原因について検査している。平成 25 年（平成 25 年 1～12 月）は 904 検体、8,548 項目について検査を実施した。大阪府における食中毒発生病因物質別件数はノロウイルスとカンピロバクターがそれぞれ 8 件ずつで最も多かった。

府内で流通している多くの種類の市販食品については食の安全推進課の依頼により食品衛生法施行令で定めるところの GLP 対応で細菌、魚介毒等の検査を行うとともに、製造所、調理施設においても腸管出血性大腸菌、サルモネラ、腸炎ビブリオ、カンピロバクター等の検査を実施し、食中毒予防に役立てている。

大阪湾で採取されるアサリ、シジミ、トリガイ、アカガイなどの二枚貝の麻痺性貝毒について検査を実施し、安全性確認に寄与している。平成 25 年度は 4 月初旬から 5 月初旬まで規制値を超える麻痺性貝毒が検出された。

### 1. 試験、検査

平成 25 年度に府内および近隣府県の諸機関から依頼された検査総数は表 3.1 に示すとおり、837 検体であった。290 検体は腸管系病原菌、547 検体は結核・呼吸器系およびその他の病原菌に関するものであった。

収去食品の試験検査は、2,648 検体、4,239 項目について実施し、検体材料、検査項目については表 3.9 に示した。

また、平成 25 年中に発生した食中毒・苦情等に関連した検体および食品は 904 検体、8,548 項目について検査を実施し、それらの結果は表 3.11 に示した。

#### 1) 腸管系感染症

平成 25 年度に府内の医療機関および保健所から発生

届けが出された 3 類感染症を表 3.2 および表 3.3 に示した。

##### (1) 細菌性赤痢発生状況

4 例の届出があり、検出菌は *Shigella dysenteriae* 2 が 1 例（推定感染国はインド）、*S. flexneri* 2b が 1 例（国内）、*S. sonnei* が 2 例（推定感染国はインド、ベトナム）であった。

##### (2) 腸チフス発生状況

1 例の届出があり、推定感染国はインドであった。

##### (3) 腸管出血性大腸菌感染症発生状況

34 事例 52 名の届出があり、感染者数は昨年よりも若干増加したが、事例数は過去最少を更新した。HUS 患者は 3 名で、このうち 2 名は菌分離陰性で、O157 抗体の検出に基づく届出であった。O157 以外の血清群が増加する傾向は続いており、今年度は分離株の 30%を

表 3.1 試験検査集計表

検査目的	総計	腸管系細菌									呼吸器系およびその他の細菌				結核菌 及び 抗酸菌	
		腸管系 小計	3類感染症				5類感染症			感染症 発生動 向調査	呼吸器 系及び その他 小計	溶連菌	その他	感染症 発生動 向調査		
			赤痢菌	チフス 菌	パラチフ スA菌	コレラ菌	腸管出 血性大 腸菌	サルモ ネラ	その他							
総検体数	837	290	4	3	1	3	69	48	155	7	281	45	205	31	266	
(有料分再掲)	(38)														(38)	
検体別・検査項目別																
検査項目	培養検査	計	85	3						3		82	21	34	27	
		(糞便)	8	3						3		5		5		
		(鼻腔・咽頭)	73									73	21	25	27	
		(その他)	4									4		4		
	同定検査	490	180	4	3	1	3	63	19	80	7	224	44	176	4	86
	核酸検査計	935	152		2		6	119	4	21		559	87	435	37	224
	抗体価測定	6	6					6								
	薬剤感受性検査	568	285	4	3	1	3	63	49	155	7	216	5	211		67
延べ検査数	2,084	626	8	8	2	12	251	72	259	14	1,081	157	856	68	377	

表 3.2 3類感染症発生状況（コレラ菌、赤痢菌、チフス菌、パラチフスA菌）

菌種	薬剤耐性パターン	菌株数	推定感染国
<i>S. dysenteriae</i> 2	ABPC,SM,ST,Su	1	インド
<i>S. flexneri</i> 2b	ABPC,SM,TC,CP,ST,Su	1	国内
<i>S. sonnei</i>	SM,TC,NA,ST,Su	1	ベトナム
<i>S. sonnei</i>	SM,TC,NA,CPFX,ST,Su	1	インド
<i>Salmonella</i> Typhi	NA	1	インド

表 3.3 3類感染症発生状況（腸管出血性大腸菌）

血清型	毒素型	グループ事例			散発事例			合計		
		事例数	感染者数	菌株数	事例数	感染者数	菌株数	事例数	感染者数	菌株数
O157:H7	1+2	3	11	11	13	13	13	16	24	24
O157:H7	1				1	1	1	1	1	1
O157:H7	2				2	2	2	2	2	2
O157:HNM	1+2	2	6	6	2	2	2	4	8	8
O157抗体検出		1*	1	1	1	1	1	2	2	2
O26:H11	1	1	2	2	2	2	2	3	4	4
O26:HNM	1	1	2	2				1	2	2
O103:H2	1	1	2	2	1	1	1	2	3	3
O111:HNM	1				1	1	1	1	1	1
O121:H19	2	1	3	3				1	3	3
O18:H2	2				1	1	1	1	1	1
OUT:HNM	2				1	1	1	1	1	1
合計		9	27	27	25	25	25	34	52	52

\* O157:H7(VT1+2)事例の患者

表 3.4 呼吸器系およびその他の細菌検査成績

	検体数	検査成績内訳
レンサ球菌検査	45	
百日咳検査	33	<i>Bordetella pertussis</i> 遺伝子検査陽性8検体 <i>Bordetella pertussis</i> 培養陽性3検体
コリネバクテリウム検査	21	すべて陰性
レジオネラ検査(培養検査&菌株同定)	31	<i>Legionella pneumophila</i> 陽性27検体
腸球菌検査(菌株同定他)	6	<i>Enterococcus faecium</i> 5検体 <i>Enterococcus faecalis</i> 1検体
肺炎球菌検査	64	
その他の検査&菌株同定等	81	
合計	281	

表 3.5 レンサ球菌血清型検査成績

検査菌 株数	<i>S. pyogenes</i> (A群) 血清型(T型)											B群	C群	G群	
	1	4	6	9	11	12	25	28	B3264	UT*	小計				
レンサ球菌感染症患者患 者分離株	27	2	5	3	1		3	1		4	3	22	2		3
TSLs患者分離株	16	2				2				1	5	10			6
合計	43	4	5	3	1	2	3	1	1	9	3	32	2		9

\*: 血清型別不能

占めた。(主担：勢戸、田口、原田)

2) 呼吸器感染症、薬剤耐性菌感染症および動物由来感染症

本年度に実施した検査は検体数(281検体)、検査総数(1,081件)であり、内訳を表3.4に示した。またレンサ球菌については血清型別成績をレンサ球菌感染症患者由来株と劇症型溶血性レンサ球菌感染症(TSLs)患者由来株に分けて表3.5に示した。

(主担：勝川、河原)

3) 結核および抗酸菌感染症

(1) 薬剤耐性結核菌の耐性パターン

平成25年度の薬剤感受性試験依頼数は68件で、47件(69.1%)は感受性、18件(26.5%)が薬剤耐性であった(表3.6)。3件は非結核性抗酸菌混入による結核菌分離不能により検査不能であった。

(2) 非結核性抗酸菌検査

本年度の府内保健所等からの抗酸菌種同定依頼23件の結果を表3.7に示した。

(3) 結核菌遺伝子型別調査

本年度に府内および近隣自治体の保健所から依頼のあった結核集団発生の感染源調査、菌株保管依頼等の結核積極的疫学調査に関する遺伝子型別調査の結果を表3.8に示した。(主担：田丸)

表 3.6 薬剤耐性結核菌の耐性パターン

	耐性パターン									菌株数
	INH	RFP	EB	SM	KM	PZA	LVFX	CPFX		
多剤耐性結核菌 (5株)	INH	RFP	EB	SM	KM	PZA	LVFX	CPFX		1
	INH	RFP	EB	SM		RBT	PZA			2
	INH	RFP	EB	SM		RBT				1
	INH	RFP		SM		RBT				1
多剤耐性でない 耐性結核菌 (13株)	INH									4
				SM						2
	INH			SM						2
	INH		EB	SM						1
		RFP				RBT				1
							LVFX	CPFX		1
			EB							1
						PZA				1

表 3.7 抗酸菌同定結果\*

	菌株数
<i>M.tuberculosis</i> complex (TB)	6
<i>M.avium</i>	3
<i>M.chelonae</i>	3
<i>M.ulcerans</i> (subsp. <i>shinshuense</i> )	2
BCG tokyo	2**
BCG (tokyo以外の株)	1**
<i>Mycobacterium spp</i>	6
合 計	23

\*:*M.tuberculosis* complex, *M.avium*, *M.intracellurale*, *M.kansasii*はLAMP法による同定  
それ以外は16SリボゾームRNA遺伝子、16S-23Sインターナル領域の塩基配列や菌種特異的挿入配列遺伝子の検出により同定。

\*\*:*M.tuberculosis*とBCGの鑑別結果

表 3.8 抗酸菌遺伝子型別依頼検査成績

依頼内訳	依頼件数	菌株数	遺伝子型が一致した件数**	一致率(%)**
集団発生感染源調査 小計	65	148	40	61.6
家庭内	24	49	22	91.7
医療施設内	15	39	7	46.7
各種施設内*	8	18	2	25.0
職場内	8	18	3	37.5
飯場関連	3	9	2	66.7
飲食店関連	2	4	1	50.0
その他の接触歴	5	11	3	60.0
再発事例,同一患者由来株	8	16	8	100
多剤耐性結核**		5	3	60.0
地域分子疫学**		56	21	37.5
菌株保管		684		
合 計		909		

\*: 老人介護施設等

\*\*:*集団発生感染源調査*では、事例内で遺伝子型の一一致した株数  
それ以外の事例では、これまでの依頼株のうちいずれかと遺伝子型の一一致した株数

表 3.9 食品検査業務実績

受付総数	収去		依頼	試験件数	菌数	大腸菌群	大腸菌	EHEC			乳酸菌	腸炎ビブリオ	サルモネラ	カンピロバクター	クロストリジア	リステリア	無菌保存試験	ヒスタミン	下痢性貝毒	麻痺性貝毒	フグ毒	ベンジルペニシリン	ノロウイルス	A型肝炎ウイルス	ブドウ球菌	腸球菌	緑膿菌	エンテロバクター	O103	ヒパロニフィカス	腸内細菌科菌群		
	保健所	行政機関						事業所	O157	O26																						O111	
魚介類	439	358	81	0	525	39	0/39	0/18	0/18	0/18	10/193	0/18	0/18	0/18	0/28	1/35	0/28													3/65			
無加熱摂取冷凍食品	8	8	0	0	16	8	0/8																										
冷凍直前加熱	14	14	0	0	28	14	0/14																										
加熱後摂取冷凍食品	38	38	0	0	76	38	0/38																										
冷凍直前未加熱	0	0	0	0	0	0																											
加熱後摂取冷凍食品	0	0	0	0	0	0																											
生食用冷凍魚介類	167	127	40	0	181	0	0/39	0/7	0/7	0/7	0/67	0/7	0/7	0/28			3/12																
魚介類加工品	1,227	1,227	0	0	2,017	36	0/26	1/367	0/367	0/367		76/429	44/367	0/1	0/26																0/5		
肉卵類及びその加工品	125	125	0	0	240	44	0/67	0/19	0/19	0/23		0/10			0/19																0/10		
乳製品	5	5	0	0	10	0	0/5			0/5																							
アイスクリーム類・氷菓	52	52	0	0	104	52	0/52																										
牛乳	37	27	10	0	64	27	0/27																										
穀類及びその加工品	15	15	0	0	45	15	0/15																										
野菜類・果物及びその加工品	181	181	0	0	361	0	0/26	0/77	0/77	0/77	0/26	0/77	0/1																				
菓子類	84	84	0	0	168	42	1/42			1/42																							
清涼飲料水	43	43	0	0	71	0	0/43																									0/14	
氷雪	0	0	0	0	0	0																											
水	13	13	0	0	13	0	0/13																										
かん詰・びん詰食品	0	0	0	0	0	0																											
その他の食品	200	200	0	0	320	16	0/16	0/44	0/44	0/44	0/26	0/44	0/44	0/26																		0/26	
器具及び容器包装	0	0	0	0	0	0																											
その他	0	0	0	0	0	0																											
総数	2,648	2,517	131	0	4,239	331	1/325	1/532	0/532	0/513	10/286	44/437	44/437	0/27	0/73	0/26	8/20	0/5	8/18	0/5	0/10	1/35	0/28	0/10	0/14	0/14	0/10	0/19	3/65	0/5			

表 3.10 大阪湾で採取された二枚貝の麻痺性貝毒検査成績

採取場所	試験法	3月11日	4月8日	4月15日	4月22日	4月30日	5月7日	5月14日	5月21日	5月28日
男里川(アサリ)	マウス試験(MU/g) <sup>1)</sup>	検出せず <sup>3)</sup>	6.3	27.1	19.8	24.7	2.8	2.0	検出せず	検出せず
	ELISA法(MU/g) <sup>2)</sup>	0.9	6.9	31.1	15.1	17.7	2.9	1.2	0.8	検出せず
二色浜(アサリ)	マウス試験(MU/g)	2.0	3.1	11.8	20.8	15.9	4.2	検出せず <sup>4)</sup>	検出せず	検出せず
	ELISA法(MU/g)	1.4	3.7	10.1	16.3	10.9	4.2	0.5	0.4	検出せず

1) 規制値:4 MU/g

2) ELISA法で予測値を算出後、マウス試験を実施

3) マウス試験の検出下限値:2 MU/g

4) ELISA法の検出下限値:0.4 MU/g

表 3.11 食中毒・苦情検査数(2013年1月～12月)

	検査数	便	吐物	食品	拭取	水	菌株	その他
検体数	904	685	2	163	42		9	3
検査項目	8,548	8,237	8	241	50		9	3
一般生菌数	0							
大腸菌群	0							
下痢原性大腸菌	612	519		82	10		1	
腸管出血性大腸菌	604	520	2	82				
サルモネラ	584	511		45	21		7	
腸炎ビブリオ	506	506						
カンピロバクター	543	533		2	7		1	
黄色ブドウ球菌	525	516	2	3	4			
セレウス菌	525	516	2	3	4			
ウェルシュ菌	545	522		19	4			
コレラ菌	506	506						
ナグビブリオ	506	506						
赤痢菌	506	506						
チフス・パラチフス	506	506						
エルシニア	506	506						
エロモナス	506	506						
プレシオモナス	506	506						
低温細菌	0							
乳酸菌	0							
カビ・酵母	0							
異物	0							
抗生物質	0							
フグ毒	1							1
貝毒	2							2
ノロウイルス	559	553	2	4				
クドア	16	15		1				
その他	0							

#### 4) 食品の収去検査

年間監視計画による検査対象食品、検査項目について検査を行った。その内訳は食品製造業、販売店などから収去された食品の細菌学的検査、魚貝毒、抗生物質およびノロウイルス等である。2,648 検体、4,239 項目の検査結果は表 3.9 に示した。

腸管出血性大腸菌 O157、O26、O111 について、肉卵類、野菜類及びその加工品等 532 検体検査したところ、牛ギアラ 1 検体のみ、O157(VT2) 陽性であった。その他、食肉 3 検体について VT 毒素遺伝子のスクリーニング検査が陽性となり、培養検査の結果、以下のとおり 3 株の腸管出血性大腸菌が分離された。同一検体が複数の腸管出血性大腸菌に汚染されている例も確認された。豚肉細切れ：O86a (VT2)、牛ギアラ：O157 (VT2)、O8 (VT2)、合挽ミンチ：O113 (VT2)

6～10 月に実施した生食用魚介類については腸炎ビブリオの規格検査はすべて陰性であったが、加熱調理用鮮魚介類では 10 検体が腸炎ビブリオ陽性となった。サルモネラ属菌、カンピロバクターについては年間を通じて、肉卵類、魚介類、野菜などの未加熱食品を中心に汚染実態調査を実施している。肉卵類及びその加工品からはそれぞれ 627 検体中 76 検体、437 検体中 44 検体が陽性となり、特に、両菌とも鶏肉の汚染率が高かった。4 月と 6 月に洋生菓子 42 検体を検査したところ、1 検体が大腸菌群陽性、1 検体が黄色ブドウ球菌陽性となり、衛生規範に不適合であった。リステリア・モノサイトゲネスについては、7 月、8 月、9 月、10 月、2 月、3 月に珍味、食肉製品、乳製品、合計 73 検体を検査したが、すべて陰性であった。11 月から 3 月にまで生カキのノロウイルスを 35 検体検査した結果、1 検体から G I が検出された。6 月と 11 月に生食用食肉の規格検査を実施したところ、5 検体とも腸内細菌科菌群は陰性であった。

4 月から 5 月にかけて大阪湾で採取された二枚貝について、規制値を超える麻痺性貝毒が検出された(表 3.10)。(文責:久米田)

#### 5) 食中毒及び苦情食品に関する検査

平成 25 年中に、府内および他府県で発生した食中毒等に関連した検体および苦情食品で保健所から当課へ搬入された 904 検体 8,548 項目について検査を実施

し、それらの結果について表 3.11 に示した。主な食中毒、苦情等についてはサルモネラ(表 3.12)、カンピロバクター(表 3.13)、その他の原因物質による食中毒(表 3.14)、有症苦情(表 3.15)にまとめた。平成 25 年は、平成 24 年と比較し、集団食中毒の発生が少なかった。6 月下旬から 9 月下旬にかけては、サルモネラ・エンテリティディス、クドア・セプテンpunkタータ、腸管毒素原性大腸菌 (ETEC)O159 による食中毒が発生した。7 月には、高齢者デイサービス施設でウェルシュ菌食中毒が発生した。カンピロバクターによる食中毒は年間を通じて発生し、散発事例(有症苦情)も多かった。11 月頃からはノロウイルスによる食中毒が多発した。

(文責:久米田)

## 2. 調査、研究

### 1) 腸管感染症および類似疾患における細菌学的研究

#### (1) 腸管感染症の細菌学的研究

3 類感染症原因菌およびサルモネラ、カンピロバクター等について、分離株の生化学的性状、血清型別、薬剤感受性試験等を実施し、流行菌型とその背景を調査した。腸管出血性大腸菌 (EHEC) については、ヒト由来株と食品由来株の毒素遺伝子サブタイプや付着性関連遺伝子の保有を比較し、後者の多様性が明らかになった。また、鶏肉からは ESBL 産生大腸菌だけでなく AmpC 産生大腸菌も同時に分離され、AmpC 産生大腸菌の検出にはセフォキシチン加平板培地が有用であると考えられた。

#### (2) 腸管系病原細菌の分子疫学解析

EHEC 感染症について、IS-printing System (IS) およびパルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) による遺伝子型別を実施し、事例間の関連性の有無を行政へ還元するとともに、型別能力の検証を試みた。特定の PFGE 型では異なる IS 型を示す場合があり、多数の変異体が存在すると推察された。また、高頻度に見られる IS 型では速やかに PFGE 法を実施する必要があると考えられた。

#### (3) 大腸菌の病原性に関する研究

大腸菌の O 抗原合成遺伝子領域の塩基配列を比較解析して抗原型に特異的なプライマーセットを作製し、菌体凝集反応による O 抗原型別との整合性を検証した(宮

表 3.12 サルモネラ食中毒 (2013年1月～12月)

No	保健所	依頼月日	原因施設	(推定)原因食品	患者数	検体数	血清型
1	守口	6.25,26	保育園	柳川風煮	23	111	S. Enteritidis
2	富田林	8.31	宿泊施設	特定できず	不明	2	S. Enteritidis

表 3.13 カンピロバクター食中毒 (2013年1月～12月)

No	保健所	依頼月日	原因施設	(推定)原因食品	患者数	検体数	原因物質
1	茨木	2.26	飲食店	飲食店の料理	4	6	<i>C. jejuni</i>
	吹田	2.27	飲食店			2	
2	枚方	4.3,4,5	飲食店	飲食店の料理	4	8	<i>C. jejuni</i>
3	枚方	5.24,25	飲食店	飲食店の料理	11	11	<i>C. jejuni</i>
4	岸和田	6.19,20	飲食店	飲食店の料理	6	16	<i>C. jejuni</i>
5	池田	9.13, 14	飲食店	飲食店の料理	4	5	<i>C. jejuni</i>
6	富田林	10.2,4	飲食店	飲食店の料理	3	3	<i>C. jejuni</i>
7	岸和田	11.12,13	飲食店	とりさしみのタタキ	16	11	<i>C. jejuni, C. coli</i>
8	吹田	12.24	飲食店	飲食店の料理	1	1	<i>C. jejuni</i>
9	四条畷	12.27	飲食店	飲食店の料理	1	1	<i>C. jejuni</i>

表 3.14 その他の病因物質による食中毒 (2013年1月～12月)

No	保健所	依頼月日	(推定)原因施設	(推定)原因食品	患者数	検体数	原因物質名	菌型
1	泉佐野	9.18,19	飲食店	ヒラメ造り	16	12	<i>Kudoa septempunctata</i>	
2	吹田	7.26, 7.29, 7.30	旅館	不明	42	26	EPEC	O159 (ST)
3	八尾	9.21, 9.22, 9.24	飲食店	不明	5	7	EPEC	O159 (ST)
4	枚方	7.26, 7.29, 7.30	デイサービス施設	7月24日の食事	15	9	<i>Clostridium perfringens</i>	CPE陽性

崎大学 IR 推進機構との共同研究)。 *Escherichia albertii* の生化学的性状と O 抗原型を精査し、一部は血清学的に大腸菌と共通抗原を保有することが明らかになった (宮崎大学医学部との共同研究)。

#### (4) 腸管出血性大腸菌の毒素遺伝子検出系に関する研究

3つの *vtx1* 遺伝子サブタイプおよび 7つの *vtx2* 遺伝子サブタイプを同時に検出できるリアルタイム PCR 法と EHEC の主要血清型である O157、O26、O111 の O 抗原決定領域を標的としたリアルタイム PCR 法を検討した。*vtx* 遺伝子検出用リアルタイム PCR 法について、

現在の収去検査で実施している Lamp 法と比較したところ、感度および特異性については同等の成績が得られた。

(主担：勢戸、田口、原田)

#### 2) 細菌性呼吸器感染症に関する調査研究

##### (1) レンサ球菌流行状況調査

1967 年から行っているレンサ球菌流行状況調査を本年度も実施した。レンサ球菌感染症患者由来株、劇症型溶血性レンサ球菌感染症 (TSLs) 患者由来株について同定、血清型別、遺伝子型別、薬剤感受性試験、病原因子

表 3.15 異物、異味、異臭等の苦情及び有症苦情 (2013 年 1 月～ 12 月)

No	保健所	依頼月日	推定原因施設	(推定)原因食品	苦情の概要	原因物質
1	枚方	3.28	飲食店	不明	下痢、発熱	<i>C. jejuni</i>
2	藤井寺	4.2	飲食店	鶏のタタキ	下痢、発熱	<i>S. Enteritidis</i>
3	寝屋川	4.5	飲食店	不明	下痢、発熱	<i>C. jejuni</i>
	守口	4.5,8				<i>C. jejuni</i>
4	富田林	4.17	飲食店	不明	下痢、発熱	<i>C. jejuni</i>
5	茨木	5.31,6.3	飲食店	不明	下痢、発熱	<i>C. jejuni</i>
6	和泉	6.7	仕出し屋	弁当	食中毒様症状	<i>S. Thompson</i>
7	四條畷	6.14	飲食店	不明	下痢、発熱	<i>C. coli</i>
	守口					
8	寝屋川	7.8	飲食店	鶏のタタキ	下痢、発熱	<i>S. Stanley</i>
	四條畷					
9	枚方	7.11	飲食店	不明	下痢、発熱	<i>C. jejuni</i>
10	茨木	7.20	飲食店	不明	下痢、発熱	<i>C. jejuni</i>
11	四條畷	8.27	飲食店	不明	下痢、発熱	<i>C. jejuni</i>
12	吹田	8.30	飲食店	不明	下痢、発熱	<i>C. jejuni</i>
13	茨木	10.10	飲食店	不明	下痢、発熱	<i>C. jejuni</i>
14	枚方	10.4,5,6	飲食店	不明	下痢、発熱	<i>C. jejuni</i>
15	八尾	10.21	飲食店	不明	下痢、発熱	<i>C. jejuni</i>
16	八尾	10.29, 30	飲食店	不明	下痢、発熱	<i>C. jejuni</i>
	八尾					
17	茨木	11.12,14	飲食店	不明	下痢、発熱	<i>C. jejuni</i>
	守口	11.13,14				<i>C. jejuni</i>
18	泉佐野	11.25	自宅	ミドリガメ飼育	下痢、発熱	<i>S. Typhimurium</i>

の解析を行った。

(2) 百日咳菌およびマイコプラズマ菌に関する研究

百日咳が疑われる患者の検体採取から検査、結果の還元に至るまで、検査の全行程における方法の見直し、改良、開発、導入により、検査精度の向上を達成した。また百日咳様症状を呈する患者の原因菌検索法として *Bordetella pertussis*、*Bordetella parapertussis* および *Bordetella holmesii* の 3 菌種を一度に検出できる Triplex real-time PCR を導入するとともに、百日咳様症状を呈する患者にはマイコプラズマ感染者も含まれていることから、上記 3 菌種に加え *Mycoplasma pneumoniae* も同時に検出できる 4-plex real-time PCR 法についても導入、評価を行った。

(3) 肺炎球菌やインフルエンザ菌等に関する研究

肺炎球菌やインフルエンザ菌等について、従来からの協力医療機関より菌株を収集し流行状況調査を実施した。また今年度より、厚労省の流行予測調査事業として、大阪府内の侵襲性肺炎球菌感染症および侵襲性インフルエンザ菌感染症全症例を対象とした調査を開始し、血清型の分布状況やワクチンとの関連性について検討した。

(4) 多剤耐性菌等に関する研究

大阪府内の医療機関で発生した多剤耐性緑膿菌の院内感染事例について、菌株の解析を実施した。PFGE や薬剤耐性関連遺伝子の解析から、本事例はほぼ単一の菌株が病院内に広く伝播したことによる集団発生であったことが証明された。(主担: 勝川、河原)

3) 結核菌および非結核性抗酸菌に関する研究

(1) 薬剤感受性試験

微量液体希釈法により感受性試験を実施した。9 剤の抗結核薬いずれかに耐性の結核菌株は 19 株/58 株(22.5%)、多剤耐性結核菌は 5 株で、このうち大阪府で高頻度に分離される多剤耐性結核特異的遺伝子型群 V02 は 1 株であった (3/12 現在)。RFP 感受性が中間値であった結核菌株の *rpoB* 遺伝子配列を調べたところ耐性に伴う SNP が検出され、RFP 低感受性株の遺伝子変異調査の必要性が認識された。

(2) 遺伝子型別

大阪府内の全結核菌を収集保管、26loci-VNTR 型別法を実施し、感染経路解明を試みている。大阪府と A 市

由来結核菌の比較では、大阪府では世界的に拡大傾向にある Beijing 株の Modern 型が、A 市にくらべ有意に多く分離されることを示した。また、府内の患者年齢別結核菌分子疫学調査を実施し、70 歳以上の患者由来株のクラスター形成率は他の年齢層由来株に比べて有意に低いことを明らかにし、大阪府では地域分子疫学調査対象を効率化が可能と示した。

### (3) 非結核性抗酸菌同定

従来どおり、発生率の高い 4 菌種については LAMP 法、それ以外の抗酸菌については塩基配列決定による同定を実施し、府内で分離される抗酸菌種分布をモニタリングしている。

### (4) その他

多剤耐性結核特異的遺伝子型群 V02 の特異性を調べるため、昨年度の 2 株に加えて実地疫学的関連のある株について次世代シーケンサーによる SNPs 解析を実施中である。また、これまで実施した V02 株のゲノムシーケンスについて論文発表した。（主担：田丸）

## 4) 細菌性食中毒に関する研究

### (1) 食中毒原因菌の免疫学的簡易検出法の開発

腸炎ビブリオ菌体に対するモノクローナル抗体を作出した。この抗体を用いた腸炎ビブリオの免疫学的迅速同定法（イムノクロマト法）を新たに考案し、その有用性を実証した。

### (2) 食品由来リステリア菌の病原性の評価

食品由来 114 株の *inlA* の塩基配列を解析したところ、25.4% で未成熟終止コドンが見つかった。未成熟終止コドンを持つ株は正常株より培養細胞への侵襲性がおおよそ 100 倍低下していた。また、血清型間で *InlA* のアミノ酸配列を比較すると血清型 1/2a のみ配列の多様性を示した。

### (3) 鶏肉からのバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) 試験法の研究

*vanA*、*vanB*、*vanC1*、*vanC2/3*、*Enterococcus faecalis*、*E. faecium*、*Enterococcus* 属を同定する Multiplex-PCR 法を確立した。さらに、国産鶏肉 138 検体について VRE 分離を実施し、2 検体より *vanA* 遺伝子保有 *E. faecium* を分離した。

（主担：川津、神吉、坂田、原田）

## 5) 食品内で産生される細菌毒素に関する研究

### (1) クドア・セプテンブクタータによる食中毒の発症機構の解明

クドアの下痢原性を調べるために、下痢発症動物モデルの 1 つである乳のみマウスを用いた。クドア孢子投与後のマウス腸管を電子顕微鏡下で観察したところ、腸上皮にクドア孢子が接着し、極糸や孢子原形質が腸上皮細胞内に認められた。さらに、クドア孢子およびその関連物質が作用した腸上皮細胞では、微絨毛の崩壊、ミトコンドリアの膨化、細胞崩壊が認められた。以上の結果、乳のみマウスでは、腸管上皮細胞障害によって下痢を生ずる可能性が考えられたが、詳細な下痢発症機構の解明には、今後さらなる検討が必要であると考えられた。

### (2) セレウス菌嘔吐型食中毒の診断法の開発

セレウス菌嘔吐型食中毒の鑑別診断や市販流通食品の安全性評価のために、LC-MS/MS 分析を用いたセレウス菌嘔吐毒（以下、セレウリド）の新規迅速定量法を開発した。この方法の検出限界値と定量限界値はそれぞれ 0.1、0.5 ng/mL で、9 種類の食品を使用した添加回収実験では 67% 以上の回収率を示した。さらに、食中毒事例由来の喫食残品や吐物からも、HEp-2 細胞を使用した生物学的検出法とほぼ同等にセレウリドを検出できることがわかった。食品 10 検体の検査を行う場合、本法は従来の生物学的検出法と比較して 5 分の 1 以下の時間でセレウリドを検出・定量できるので、食品検査や食中毒診断に応用できると考えられた。

（主担：河合、神吉、原田、余野木、陳内）

## 6) 食中毒原因物質としてのノロウイルスに関する研究

### (1) 食品からのノロウイルス検出法について

食品からのノロウイルス検出法について、厚労省から食安監発 1022 第 1 号（平成 25 年 10 月 22 日）に記載のあった方法を用いて添加回収試験を実施した。モデル食品としてポテトサラダを使用した。

（主担：依田、原田、山崎\*、左近\*、中田\*\*ウイルス課）

## 7) 真菌及び魚介毒に関する研究

### (1) 麻痺性貝毒の簡易測定キットの実用化に関する研究

開発した簡易測定キットを大阪湾における本貝毒のモニタリングに導入するため、大阪湾で採取された有毒二枚貝を測定し、その結果をマウス試験法と比較し、その信頼性を検証した。また、簡易測定キットを貝毒モニ

タリングに導入しようと検討している自治体の水産研究所等に基礎的条件の検討用に試験的に本キットを配布した。

(2) マイコトキシン産生菌の遺伝学的検出法の開発  
MALDI-TOF/MS を用いた真菌の同定法について、アフラトキシンを産生する菌種が属する *Aspergillus section Flavi* を対象に検討を行った。本手法は、簡便・迅速な上、ITS 領域による遺伝学的同定法と同程度の同定能があると考えられた。(主担：川津、坂田、久米田)

### 8) 地球規模課題対応国際科学技術協力

(1) 薬剤耐性細菌発生機構の解明と食品管理における耐性菌モニタリングシステムの開発 (分担研究)  
ベトナムのホーチミンとタイビンに計 8 回訪越し、ホーチミン市公衆衛生医療院あるいはタイビン医科大学のスタッフと共同研究を実施した。研究内容は、食品の流通過程において薬剤耐性菌の拡散にかかわる要因を明らかにするため、ビンディン卸売市場 (ホーチミン)、食肉処理場、食鳥処理場、スーパーマーケット、地域生鮮食品小売店、農家等でサンプリングを行い、流通食材中の ESBL 産生大腸菌とサルモネラの検出を試みた。  
(主担：河合、神吉、河原、余野木、陳内、平井、久米田)

## 3. 教育、研修等

### 1) 教育、研修、講演等

H25.5.23 ヌードル博にて「かびのはなし」講師 (久米田)

H25.6.20, 11.8 結核研究所国際研修コースにおいて「大阪府の結核の現状」講師 (田丸)

H25.7.5 平成 25 年度保健師現任研修「感染症コース (その他感染症)」講師 (久米田・勝川・勢戸・田丸)

H25.7.1 ~ H26.3.31 中核市に向けて、枚方市保健所研修生受け入れ。主に、食品細菌収去検査と食中毒検査について技術研修を実施 (全員)

H25.7.9 ~ 9.12 地球規模課題対応国際科学技術協力 (SATREPS) 短期研修生 (ホーチミン公衆衛生医療院) 受け入れ。薬剤耐性菌に

係る技術研修を実施 (河原、田口、久米田)

H24.8.28, 9.3, インターンシップ実習生 (食の安全推進課) 受け入れ (河合、川津、神吉、坂田、原田、余野木、陳内、平井、久米田)

H25.9.2, 9.3 大阪大学医学部学生実習受け入れ (全員)

H.25.9.12, 9.13 岡山県環境保健センター職員に「患者便からの *Kudoa septempunctata* 遺伝子検出法について」研修を実施 (陳内、原田、河合)

H25.10.21 ~ 10.24, 10.28 ~ 10.31, 12.2 ~ 12.5, 2.17 ~ 2.20 大阪府保健所食品衛生監視員に検査研修を実施 (余野木、原田、平井)

H25.11.18 近畿大学農学部バイオサイエンス学科学生「バイオビジネス実習」講師 (久米田)

H25.11.20 食品衛生監視員研修会において、「食品とカビ」講師 (久米田)

H26.1.15 暮らしのサイエンス講演会「謎の食中毒の正体は、寄生虫クドア・セプテンブクタータ」講師 (久米田)

H26.2.28 大阪府立消防学校「生物剤に関する基礎知識」講師 (久米田)

### 2) 会議、委員会、研究会等

H25.6.24, 9.9, 12.18, H26.3.9 泉佐野保健所コホート会議に出席 (田丸)

H25.7.11 感染症発生動向調査委員会 (大阪府・大阪市・堺市・高槻市・東大阪市・豊中市) に出席 (田口)

H25.8.20, H26.3.25 大阪府動物由来感染症対策検討委員会に出席 (久米田)

H25.9.26 平成 25 年度大阪府衛生検査所精度管理審議会に出席 (勝川、田口)

- H26.2.26 平成 25 年度大阪府・大阪市・堺市・東  
大阪市・豊中市合同による大阪府衛検査  
所精度管理合同会議に出席（勝川、田口）
- H26.3.14 守口保健所コホート会議に出席（田丸）
- H25.6.21, 8.2, 9.25, 10.15, H26.3.26  
内閣府食品安全委員会のかび毒・自然毒  
等専門調査会（第 25 回、第 26 回、第  
28 回、第 29 回、第 32 回）に出席  
（久米田）

#### 4. 外部機関との共同研究事業

##### 1) レファレンスセンター事業

衛生微生物技術協議会、希少感染症研究事業の「カンピロバクター」、「レンサ球菌」、ならびに「ボツリヌス」の近畿支部レファレンスセンターとして以下の事業を行い報告した。

###### (1) カンピロバクター

散発事例由来の *C.jejuni* 14 株の血清型別を行った結果、Lior 型別では 8 株が 2 血清型に型別され、Penner 型別では 5 株が 3 血清群に型別された。*C.jejuni* のニューキノロン系薬剤に対する感受性試験では 14 株全てが耐性である結果を得た。また 10 件の食中毒事件の血清型

を調べ疫学解析に利用した。

###### (2) レンサ球菌

近畿支部内各地研の協力を得て A 群溶血性レンサ球菌の月別検出状況を調査し、血清型別を実施した。また劇症型溶血性レンサ球菌感染症例からの分離株の収集、血清型別、遺伝子型別、薬剤感受性試験および病原因子の解析を国立感染症研究所と共同で行った。

###### (3) ボツリヌス

レファレンスセンター会議にて、ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会を継続実施する旨の報告があった。

##### 2) 大阪府衛生検査所精度管理事業

大阪府衛生検査所精度管理審議会（平成 25 年 9 月 26 日開催）、大阪府・大阪市・堺市・東大阪市・豊中市合同による衛生検査所精度管理合同会議（平成 26 年 2 月 26 日開催）に出席。大阪府内で微生物検査を登録している衛生検査所のうち、平成 25 年度は 2 カ所について立ち入り調査を実施した。（勝川、田口）

大阪府保健所生活衛生室 4 検査課における腸管感染症検査の精度管理のため、検体の調整および結果の評価を行った。（田口）

QuantiFERON-TB の検査を実施している保健所検査課について精度管理を実施した。（河原、田丸）