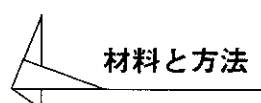


近年の分子生物学的手法のめざましい進歩に伴い、多くの病原性細菌ゲノムの全塩基配列が決定されている。呼吸器感染症の病原微生物の中でも *Haemophilus influenzae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma pneumoniae* のゲノムの全塩基配列が既に決定され¹⁾、*Streptococcus pneumoniae*, *Legionella pneumophila* のプロジェクトも現在進行中である。このような背景のもとに遺伝子レベルから感染症の病態をアプローチする手法に大きな進歩がみられた。これまでは不可能であった *in vivo* で一度に数多くの病原遺伝子をスクリーニングする方法もその一つである。Signature tagged mutagenesis (STM 法) はランダムかつ各々が異なる塩基配列のプールを用いて変異株の一つ一つに異なる標識をする事により、病原遺伝子を *in vivo* でスクリーニングする事を可能とした²⁾。一方で *in vivo* expression technology (IVET 法) は増殖に必須の遺伝子を transposon を介してゲノム上の遺伝子に組み込み、当該遺伝子が *in vivo* で発現されるか否かを確認する方法である³⁾。このような遺伝子情報の集積および新しい解析法は感染症病態の理解に大きな進歩をもたらすとともに新しい抗菌薬開発への応用も行われている⁴⁾。

Holden らは STM 法を開発し²⁾、本法を用いて *Salmonella typhimurium* の新しい病原遺伝子島、*Salmonella* pathogenic island 2 (SPI2) を発見した⁵⁾。現在までに、*Streptococcus pneumoniae*⁶⁾、*Staphylococcus aureus*⁷⁾、*Vibrio cholerae*⁸⁾、*Proteus mirabilis*⁹⁾、*Mycobacterium tuberculosis*¹⁰⁾、*Neisseria meningitidis*¹¹⁾、*Candida glabrata*¹²⁾ などの病原遺伝子の探索に本法が応用され、多くの新しい病原遺伝子が発見された。今回、私たちはこの STM 法を用いて、レジオネラの病原遺伝子の検索を行い、新しい知見が得られたので報告したい。



細菌株およびプラスミド

L.pneumophila 血清群 1、130b 株の streptomycin 耐性変異株である AA100jm 株を実験に用いた。本株はモルモット、マクロファージ、アメーバの実験系で病原性を示す¹³⁾。本株は BCYE- α 寒天培地あるいは BYE- α 液体培地にて 35 度にて培養した。

Escherichia coli DH 5 α λ pir 株、SM10 λ pir 株および XL-1 Blue 株は Luria-Bertani (LB) 寒天培地あるいは液体培地にて培養した。Electroporation の際には 2 x YT 培地を用いた。選択培地での抗菌薬の濃度は以下の通りである。カナマイシン (Km) 30mg/L、アンピシリン (Amp) 50mg/L、ストレプトマイシン (Sm) 200mg/L である。

プラスミド pCVD442¹⁴⁾ は mobRP4, oriR6K, bla, MCS, sacB を有する。プラスミド pKD368¹⁵⁾ はトランスポゾン Tn903, カナマイシン耐性遺伝子, lacZ, oriM13 を有する。IS903 は *L.pneumophila* に効率よくランダムにトランスポーズされる事が既に示されている。

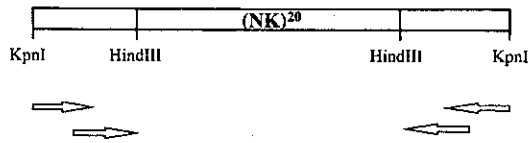
Signature Tag を用いたレジオネラ変異株ライブラリの作成

pKD368 を EagI および XmnI で処理し、得られた Tn903 を含む 8 kb の断片をゲル泳動後に精製し、さらに Klenow fragment で断片を blunt にした。一方で、pCV442 を EcoRV にて切断し、4.5kb の断片を脱リン酸化し、これらを ligation したものを、DH 5 α λ pir 株に導入した。Km 耐性株からプラスミドを精製し、KpnI リンカーを EcoRV 部位に挿入した。これを改めて、DH 5 α λ pir 株に導入し、Km および Amp 耐性株を得て、これを pC6 とした。

Signature Tag (ST) は 40 塩基対のランダムな塩基配列とその両端に共通の配列を有する common outer arm からなる (図 1)²⁾。これを primer P3 と P5 にて PCR にて増幅し、得られた産物を精製し、KpnI にて切断した。これを pC6 の KpnI リンカーの部分に組み込み、DH 5 α λ pir 株に導入した。得られた Km および Amp 耐性株をプールとして回

Nature of the signature tags

- 80 bp oligonucleotide with variable central region and constant arms



N; G, A, T, or C

K; G or T

primers for making signature tags

primers for amplification of signature tags from mutant pool

図1 Nature of the signature tags

取し、プラスミドを精製した (pC6HT)。このプラスミド・プールを SM10 α λ pir 株に導入した。

L.pneumophila AA100jm 株を pC6HT プールを有する大腸菌 SM10 α λ pir 株と BCYE-a 寒天培地上にて交接を行い、得られた Sm および Km 耐性株を変異株として回収した。これら変異株については L-cystein 要求性、Amp 感受性を確認し、2,200 株のライブラリを作成した。

Shuttle vector for signature tagged transposon mutagenesis

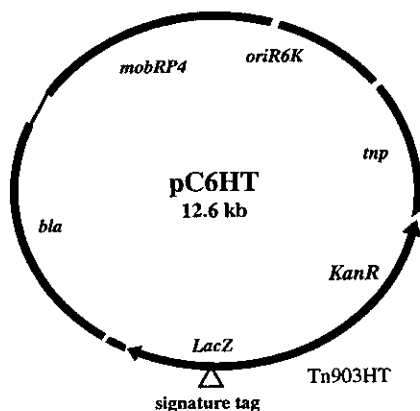


図2 pC6HT

ナイロンメンブレン上にそれぞれの変異株を発育させた後に、洗浄し、膜上に残存した DNA を denature した。変異株プールの genomic DNA を鋳型として Signature Tag 領域を含むプローブを作製した。³²P-CTP およびプライマー P2, P4 を用いて Signature Tag を PCR にて増幅し、この増幅産物をプロー

ブとしてハイブリダイゼーションを行った。1,386 株が十分なシグナルを示し、これらを新たな変異株プールとして、動物実験モデルに供した。任意に選んだ変異株の genomic DNA を制限酵素にて切断し、southern blot hybridization を行ったところ、全ての株が一カ所に transposon を有しており、その部位は異なるものであることを確認した。

In vivo negative selection of avirulent mutants using signature tag

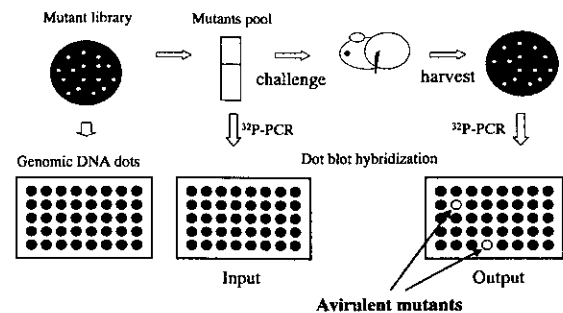


図3 動物感染モデルによる negative selection

モルモット (Hartley、オス、250g) を麻酔した後、気管を無菌的に露出した。変異株プールの菌液を注射器を用いて投与した。2 日後にモルモットをペントバルビタール過量投与にて sacrifice し、その肺および脾を無菌的に回収した。ホモジナイズおよび希釈した検体を Km 添加 BCYE- α 寒天培地に培養し、発育したコロニーを回収して、Genomic DNA を得た。これを鋳型として前述のドットプロット・ハイブリダイゼーションを行った。ハイブリダイゼーションにより、ドットが認められない、あるいは極めて弱いシグナルの場合に、感染動物の臓器において消失した株と判定した。

塩基配列の決定

非病原性変異株の genomic DNA を精製し、これを制限酵素で切断したあと、トランスポゾンを含む断片をゲル精製した。これをプラスミドベクター pUC18 と ligation し、大腸菌 XL-1 Blue 株に導入した。得られた Km 耐性株からプラスミドを精製し、ABI Big Dye Taq FS terminator sequencing kit (Applied Biosystems) および ABI 377 オートシーケンサーを用いて、塩基配列を決定した。塩基配列は BLASTN および BLASTX にて既知の遺伝子との相同性について解析を行った。

栄養要求性の決定

Modified CAA 培地を用いて、変異株の発育の程度を観察した。本培地はプリン、ピリミジン、トリプトファン、を含有していない。レジオネラは本培地上でコロニーを形成するのに10-14日間要した。BCYE-a培地上の発育と比較して1/1000以下のコロニー数を示すものを栄養要求株と判定した。

マクロファージ内での増殖

モルモットの肺胞マクロファージを24穴マイクロプレートにて培養し、これに MOI 0.1にてレジオネラ変異株あるいは親株を感染させ、2日後および3日後に上清中の生菌数を測定した。

結果

1,386株の *L.pneumophila* 変異株をモルモット感染モデルを用いてスクリーニングを行った。

一匹のモルモットにはほぼ96株づつのプールを投与した。一匹あたりの投与菌数は平均 4.9×10^6 CFUであった。臓器から回収した菌プールからプローブを作製して、ブロットハイブリダイゼーションを行い、

4臓器（2肺、2脾）のうち、3臓器において消失した変異株を特定した。この条件を満たす変異株は35株、全体の2.5%であった。この35株を一つのプールとして別の6匹のモルモットに投与した。6臓器の内、3臓器で消失した株を非病原性変異株とし、16株の非病原性株が得られた。動物実験の間にトランスポゾンが欠失した株は認められなかった。

16株の非病原性変異株のトランスポゾンが挿入された部分の塩基配列を決定した。6株は既知のレジオネラ病原遺伝子であり、その内の5株は *dot/icm* locus であり、1株が *proA* 遺伝子であった。3株は BlastN および BlastX サーチにても既知の遺伝子との相同性は確認されなかった。7株は他属菌との相同性が認められるが、*L.pneumophila* では未知の病原遺伝子であった（表1）。

CAA 培地上での増殖の検討では *aroB* 変異株と mutant 3b が栄養要求株であった。マクロファージ内増殖能の検討では、感染2日後では12株に増殖の低下がみられたが、そのうち6株は感染3日後には親株と同等の増殖が確認された。6株は増殖能を欠失しており、これらは *dot-icm* 変異株が4株であった。*icmF* の近傍が1株、*aroB* 変異株が1株であった（表1）。

Table 1 Characterization of clones

| Clone | Transposon insertion site | Mφ growth* | | Animal model† | GenBank no. | Identity/Similarity, e value‡ |
|-------|---|------------|--------|---------------|-------------|-------------------------------|
| | | 2 days | 3 days | | | |
| 6b | <i>L. pneumophila icmX</i> | -3.7 | -4.9 | LS | 3602929 | 86/97, e^{-59} |
| 3c | <i>L. pneumophila dotB</i> | -3.6 | -5.5 | LS | AF026533 | 100/100, e^{-10} |
| 2f | <i>L. pneumophila dotO/icmB</i> | -3.1 | -4.5 | LS | AF026534 | 100/100, e^{-75} |
| 6c§ | <i>L. pneumophila icmX</i> | -4.0 | -5.2 | LS | 3602929 | 91/94, e^{-117} |
| 8a | <i>L. pneumophila dotF/icmG</i> | -1.1 | 0.2 | LS | AF026534 | 97/97, e^{-14} |
| 8g | NH¶ (608 bp upstream of <i>L. pneumophila icmF</i>) | -2.3 | -2.1 | LS | | |
| 5b | <i>L. pneumophila proA</i> | -1.3 | -0.2 | LS | M31884 | 100/100, e^{-46} |
| 4a | <i>E. coli</i> phosphoenolpyruvate phosphotransferase (<i>pts</i>) homolog | -1.8 | -0.5 | LS | 1255724 | 40/61, e^{-36} |
| 3h | <i>E. coli</i> phosphoenolpyruvate phosphotransferase (<i>pts</i>) homolog | -1.7 | -0.5 | LS | 1255724 | 45/67, e^{-31} |
| 4b | <i>Haemophilus influenzae</i> 3-dehydroquinase synthetase (<i>aroB</i>) homolog | -2.9 | -2.7 | LS | 1073786 | 57/72, e^{-71} |
| 5f** | <i>H. influenzae</i> 3-dehydroquinase synthetase (<i>aroB</i>) homolog | -1.5 | -0.2 | LS | 1073786 | 34/51, e^{-10} |
| 4d | Quenine tRNA-ribosyltransferase (<i>tgr</i>) homolog | -0.5 | -0.1 | LS | Q55983 | 42/58, e^{-77} |
| 4c | <i>Helicobacter pylori</i> β-alanine synthetase homolog | -0.2 | 0.2 | LS | 2313883 | 46/57, e^{-16} |
| 8b | Hypothetical 107-kDa protein in <i>argR-cafA</i> region homolog | -0.3 | 0.0 | ls | 2851641 | 28/51, e^{-6} |
| 3b | NH | -0.8 | 0.1 | LS | | |
| 1c | NH | -0.3 | 0.1 | LS | | |

*Difference (\log_{10} cfu/ml) between concentration of clone and parent strain grown in guinea pig alveolar macrophages, after 2 and 3 days. Data represent mean of two independent experiments. The median differences and 95% CIs between the two experiments for each strain were \log_{10} cfu/ml 0.09 (0.07-0.19), 0.26 (0.16-0.35), and 0.34 (0.22-0.46) for days 0, 2, and 3, respectively.

†Organs not containing detectable clone by colony blot. LS, missing from all three lungs and spleens from three animals; ls, missing from the lungs and spleens of two of three animals.

‡BLASTX search identity and similarity percent, and e value.

§The transposon insertion sites of clones 6b and 6c were 615 bp apart in the same direction.

¶NH, no homology found in BLASTX search of the GenBank database.

||The transposon insertion sites of clones 4a and 3h were 434 bp apart and in opposite directions.

**The transposon insertion sites of clones 4b and 5f were 106 bp apart and in opposite directions.

考 察

我々はSTM法を用いて *L.pneumophila* の病原遺伝子の検索を行い、新しい病原遺伝子を同定する事ができた。これまでも *L.pneumophila* の多くの病原遺伝子が報告されているが、これらは *in vitro* のマクロファージ感染モデルにて検索されてきたものであり、動物感染モデルそのものを用いた病原遺伝子の検索は世界で初めての試みである。

本研究ではマクロファージに対する病原性において3種類の異なった非病原性遺伝子が確認された。第一群はマクロファージ内増殖能が全く欠損している群で、これらは全て dot-icm システムの遺伝子であった。dot-icm システムはIV型の export system と推定されており、ファージの交接あるいは宿主細胞膜の pore formation、塩化ナトリウム耐性に関与する事が明らかにされている¹⁰⁾。本研究から dot-icm システムは *in vivo* においてもやはり重要な病原遺伝子の一つである事が確認された。ただし、dotF/icmG は細胞内増殖の欠損がみられず、dot-icm システムを構成する遺伝子にも、その役割には多様性が認められることも推察しうる。軽度の細胞内増殖欠損を示すものとして aroB 変異株および icmF の近傍にトランスポゾンが挿入された変異株がある。

第二群としては、マクロファージ感染初期は細胞内増殖がみられないが、培養時間を延長すると十分な増殖が確認できるものである。これには *ptsP*, *aroB*, *proA* が含まれる。このような遺伝子は従来報告されている *mip* 遺伝子のような働きをするものかもしれないが、細胞外の要因も否定できない。第三群は全くマクロファージ増殖能の欠損を示さないもので、マクロファージ病原性が関与しない要因も *in vivo* では重要な病原因子となりうる事を示唆している。血清感受性、液性因子、好中球殺菌に対する抵抗性、肺胞上皮内における増殖などを検討する必要がある。

本研究では1,386株の変異株をスクリーニングしたが、これはレジオネラゲノム全体の遺伝子を探索するには未だ十分な数ではない。従って、まだ未知の病原遺伝子が存在することは十分に予想される。

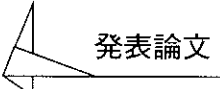
しかし、本法は未知の機序に基づく病原遺伝子の検索には特に優れた手法であり、今後多くの感染症の病態解析にも応用しうるものと考えられる。

結 論

STM法を用いて *L.pneumophila* の病原遺伝子を検索した。これまで報告されている dot-icm システム、Zinc metalloprotease とともに新しい遺伝子が複数発見された。本法はレジオネラ感染症の病態解析に極めて有用であり、他の感染症にも応用可能な優れた手法である。

参考文献

1. Strauss EJ, Falkow S. Microbial Pathogenesis: Genomics and Beyond. *Science* 276: 707-712, 1997
2. Hensel M, Shea JE, et al. Simultaneous identification of bacterial virulence genes by negative selection. *Science* 269:400-403, 1995
3. Mahan MJ, Slauch JM, Mekalanos JJ. Selection of bacterial virulence genes that are specifically induced in host tissues. *Science* 259:686-8, 1993
4. Moir DT, Shaw KJ, et al. Genomics and Antimicrobial Drug Discovery. *Antimicrob Agents Chemother* 43:439-446, 1999
5. Shea JE, Hensel M, et al. Identification of a virulence locus encoding a second type III secretion system in *Salmonella typhimurium*. *PNAS USA* 93:2593-2597, 1996
6. Polissi A, Pontiggia A, et al. Large-scale identification of virulence genes from *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun* 66: 5620-9, 1998
7. *Staphylococcus aureus* genetic loci impacting growth and survival in multiple infection

- environments. *Molecular Microbiol* 30:393-404, 1998
8. Chiang SL, Mekalanos JJ. Use of signature-tagged transposon mutagenesis to identify *Vibrio cholerae* genes critical for colonization. *Mol Microbiol* 27:797-805, 1998
 9. Zhao H, Li X, et al. Identification of protease and rpoN-associated genes of uropathogenic *Proteus mirabilis* by negative selection in a mouse model of ascending urinary tract infection. *Microbiology* 145:185-195, 1999
 10. Cox JS, Chen B, et al. Complex lipid determines tissue-specific replication of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nature* 402:79-83, 1999
 11. Claus H, Frosch M, Vogel U. Identification of a hotspot for transformation of *Neisseria meningitidis* by shuttle mutagenesis using signature-tagged mutagenesis. *Mol Gen Genet* 259:363-371, 1998
 12. Cormack BP, Ghori N, Falkow S. An adhesin of the yeast pathogen *Candida glabrata* mediating adherence to human epithelial cells. *Science* 23;285(5427):578-82, 1999
 13. Cirrilo JD, Falkow S, Tompkins LS. Growth of *Legionella pneumophila* in *Acanthamoeba castellanii* enhances invasion. *Infect Immun* 62:3254-3261, 1994
 14. Donnenberg MS, Kaper JB. Construction of an eae deletion mutant of enteropathogenic *Escherichia coli* by using a positive-selection suicide vector. *Infect Immun* 59:4310-4317, 1991
 15. Derbyshire KM. An IS903-based vector for transposon mutagenesis and the isolation of gene fusions. *Gene* 165:143-144, 1995
 16. Kirby JE, Isberg RR. Legionnaires' disease: the pore macrophage and the legion of terror. *Trend Microbiol* 6:256-258, 1998
- 

発表論文
- Edelstein PH, Higa F, et al.:
Discovery of virulence genes of *Legionella pneumophila* by using signature tagged mutagenesis in a guinea pig pneumonia model. *Proc Natl Aca Sci USA* 96:8190-8195, 1999

24時間風呂での水中分娩後発症した 新生児レジオネラ肺炎の一例

研究協力者：

名古屋第二赤十字病院小児科
名古屋第二赤十字病院病理
国立感染症研究所細菌部

永井琢人、側島久典、岩佐充二
都築豊徳
倉 文明、前川純子

分担研究者：

国立感染症研究所細菌部

渡辺治雄

Neonatal *Legionella* Pneumonia after waterbirth in 24-hours home bath.

Takuhito Nagai¹⁾, Iwasa Mitsuji¹⁾, Sobajima Hisanori¹⁾, Tsuzuki Toyonori²⁾,
Fumiaki Kura, Junko Maekawa and Haruo Watanabe³⁾

¹⁾ Department of Pediatrics, Nagoya Daini Red Cross Hospital ²⁾ Department of Pathology, Nagoya Daini Red Cross Hospital ³⁾ Department of Bacteriology, National Institute of Infectious Diseases (former NIH)

研究要旨

満期産の成熟女児が日齢8に呼吸停止の状態で見られ死亡した。剖検の結果肺より *Legionella pneumophila* serogroup 6が検出されレジオネラ肺炎と診断された。妊娠経過には異常なく、出産は自宅の24時間風呂で水中分娩にて行われた。出産後2週間後の浴槽水よりレジオネラ属を検出し、その菌数は14640 (CFU/100ml)であった。24時間風呂を感染源とするレジオネラ肺炎と考えられ、周産期医療におけるレジオネラ感染症を再認識する症例であった。

はじめに

1976年、アメリカでのレジオネラ肺炎発生例より25年ほど経過した¹⁾。それまでに世界で数多くの症例が報告されたが、海外の新生児発生例はわずか数例が報告されているだけである。本邦では千葉県こども病院、慶應病院について6例目と報告は限られている^{2,3)}。また出産が24時間風呂での水中分娩にて行われていたことにより発症した最初の症例である。24時間風呂は構造に生物学的浄化を取り入れておりその使用については以前より危険性が指摘されていた。浴槽水よりの感染である可能性が高く、周産期医療におけるレジオネラ感染症を再認識させられたため報告するに至った。

症例報告

1999年6月15日出生、第2子、在胎週数42週0日、出生体重3500gの女児である。母体の妊娠経過、既往歴に特記すべき項目はなかった。また、妊娠中より母は自宅出産を希望していた。出産当日助産院へ陣痛の連絡はしたが、出産時の助産婦立ち会いはなかった。水中分娩にて分娩を行い、生後15分に助産婦が自宅に到着した。その時児には特に問題はなかった。

日齢4に黄疸、発熱認め近医の産婦人科医院に光線療法のため入院となった。24時間光線療法施行した後、黄疸、発熱軽快し全身状態良好なため退院となった。日齢7発熱認めたが、哺乳力良好であり経過を見ていたが、夜間に嘔吐がみられた。翌、日齢8朝解熱しており活気は普段と変わりなかった。12時30分に活動性確認されていたが、14時30分児の呼吸停止に気づき119番通報した。救急隊到着時、心肺停止状態であり速やかに蘇生行為が行われ、当院救急外来へ搬送となった。当院救急外来到着時は、対光反射なく瞳孔散大しモニター上心静止の状態であった。気管内挿管、薬剤投与し心肺蘇生行うも反応なく、到着17分後の15時26分死亡確認された。その後家族の了承を得て病理解剖を行った。

病理解剖にて、両側肺の肺表面および実質内に数mmから10mmの充実性黄色結節状病変を慢性性に認めた。同部位内では肺胞腔内に好中球浸潤及び組織球の集簇を認めた。組織球内では好中球及びその核破砕物の貪食が目立った。組織球内ではGram染色難染性、ヒメネス染色陽性の桿菌を多数認めた。肺以外の臓器では死因となりうる器質的異常は認めなかった(図1、2、3)。病変部肺組織よりPCR法で*Legionella pneumophila* DNAが検出され、間接蛍光抗体法で*Legionella pneumophila* serogroup 6抗原陽性の桿菌が多数認められた(図4、5)。

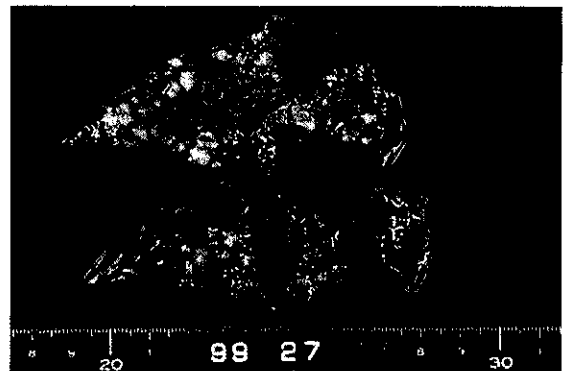


図1



図2

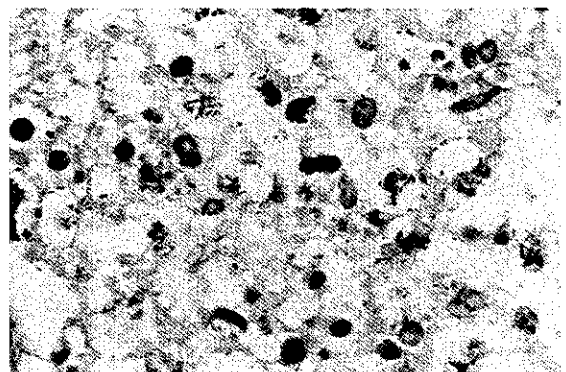


図3

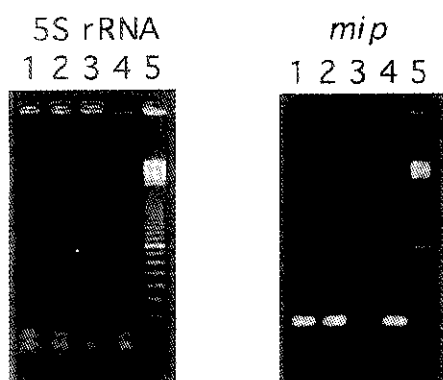


図4

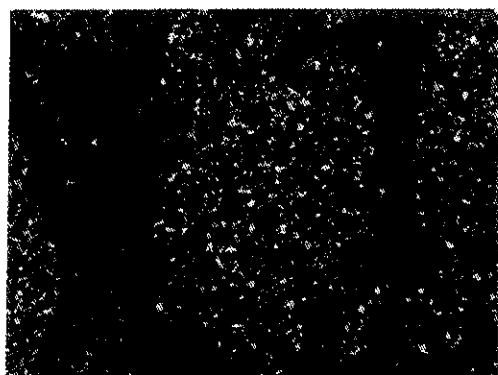


図5

以上より患児は *Legionella pneumophila* serogroup 6 による肺炎で死亡したと判断された。

出産時に使用された24時間風呂は、患児の家に1997年に設置された。この製品はレジオネラ属菌制菌剤が組み込まれており、通常半年間有効であると説明されていた。尚、自験例ではレジオネラ属菌制菌剤を出産3ヶ月前に新品に交換されていた。浴槽

水は出産後に入れ替えをしており浴槽水のサンプルを出産2週間後採取した。検体を low pH 法で解析したところ、レジオネラ属が陽性であり菌数は14640 (CFU/100ml) であった。菌種については同定できなかった (CFU: Colony Forming Unit)。

考 察

本邦において現在までに5例の新生児レジオネラ感染症が明らかになっている。また世界的にみても新生児発症には何らかの基礎疾患を有している例が多い⁹⁾ (表1)。

さらに24時間風呂が感染源として疑われた例は今までに数例報告されている。今回、病変部および浴槽水よりレジオネラ属が検出されたことより浴槽水が感染源である可能性が非常に高いと考えられる。24時間風呂は生物浄化を導入しているので、レジオネラ属に限らず多くの細菌の宝庫であるといえる。その装置を使用しての水中分娩にはレジオネラ感染症に限らず細菌感染症を引き起こす危険性があるといえる。また、現在の厚生省レジオネラ防止対策では直接吸引する可能性の高い場合、菌数は検出感度以下 (10CFU/100ml未満) としており、装置及び使用方法の改善が求められる。

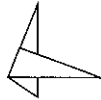
自験例では、症状発生からの増悪が非常に速く早期発見、治療の困難さを経験した。

表1

| 症例 | 文献番号 | 在胎週数 | 出生体重 (g) | 合併症 | 発症年齢 | 発症様式 | 起因菌 | 転帰 |
|----|------|-------|----------|-----------|------|--------|-------|----|
| 1 | 2 | 満期産 | 3652 | - | 日齢09 | 肺炎 | Lp1 | 死亡 |
| 2 | 3-a. | - | - | - | 日齢11 | 肺炎 | Lp6 | 死亡 |
| 3 | 3-b. | - | - | - | - | 肺炎 | Lp6 | 軽快 |
| 4 | 3-c. | - | - | - | - | 肺炎 | Lp6 | 軽快 |
| 5 | 3-d. | - | - | - | - | 肺炎 | Lp1 | 軽快 |
| 6 | 5 | 在胎27週 | 1077 | - | 日齢26 | 肺炎 | Lp1 | 死亡 |
| 7 | 6 | 満期産 | 3760 | - | 日齢06 | 肺炎 | Lp1 | 軽快 |
| 8 | 7 | 在胎35週 | 2360 | - | 日齢10 | 肺炎 | Lp1,8 | 軽快 |
| 9 | 8 | 満期産 | 2890 | 左心低形成 | 日齢12 | 肺炎 | Lp1 | 死亡 |
| 10 | 9 | 在胎29週 | 1100 | RDS | 日齢31 | 肺炎、敗血症 | Lp6 | 軽快 |
| 11 | 10 | - | - | 先天性免疫不全 | 日齢31 | 胸膜炎 | Lp1 | 死亡 |
| 12 | 11 | - | - | 未熟性 | 日齢10 | - | Lp1 | 死亡 |
| 13 | 12 | - | 3450 | 低酸素性虚血性脳症 | 日齢04 | 肺炎 | Lp6 | 死亡 |

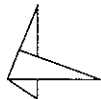
Lp1: *Legionella pneumophila* serogroup 1
 Lp6: *Legionella pneumophila* serogroup 6
 Lp8: *Legionella pneumophila* serogroup 8

他の報告にも重症例や死亡例を認めており報告の頻度は少ないが重症感染症の一つとして今後鑑別診断に加えておく必要があると考えられた。




結 語

自験例を通して、24時間風呂内での水中出産には感染症併発の危険性があると考えられる。また、レジオネラ属が新生児期において重要な感染症の一つであると感じさせられた。



参考文献

- 1) Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, et al. Legionnaires' disease: Description of an epidemic pneumonia. N Engl J Med 297:1189-97, 1977
- 2) Horie H, Kawakami H, Minoshima K, et al. Neonatal Legionnaires' disease: histopathological findings in an autopsied neonate. Acta Pathol Jpn 42:427-31, 1992
- 3) 山下直也、杭田紫永、森川良行ら. 新生児レジオネラ肺炎の4例. 日本小児科学会雑誌 102:323, 1998
- 4) Levy I, Rubin LG: *Legionella pneumophila* in neonates: A literature review. Journal of Perinatology, 18 287-290, 1998
- 5) Womack SJ, et al. *Legionella pneumophila* in a preterm infant. A case report. J Perinatol 12:303-5, 1992
- 6) Ahrens F, et al. [Legionellosis in a newborn infant]. Monatsschr Kinderheilkd. 141:711-3, 1993
- 7) Aubert G, et al. Nosocomial infection with *Legionella pneumophila* serogroup 1 and 8 in a neonate. Scand J Infect Dis. 22(3):367-70, 1990
- 8) Greene KA, et al. Fatal postoperative *Legionella* pneumonia in a newborn. J Perinatol 10(2):183-4, 1990
- 9) Holmberg RE Jr, et al. Nosocomial *Legionella* pneumonia in the neonate. Pediatrics 92(3):450-3, 1993
- 10) Negre V, Chevallier B, Dournon E, et al. Nosocomial legionnaires' disease in children, preventive measures. Arch Fr Pediatr 47:43-5, 1990
- 11) Luck PC, Dinger E, Helbig JH, Thurm V, Keuchel H, Presch C, Ott M: Analysis of *Legionella pneumophila* strains associated with nosocomial pneumonia in a neonatal intensive care unit. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 13:565-71, 1994
- 12) Ferrer A, Elcuaz RI, Gimenez-Perez M, Iglesias J, Fernandez-Perez F [Childhood legionellosis]. Enferm Infecc Microbiol Clin. 8:278-81, 1990



発 表

学会：
永井琢人、側島久典、岩佐充二、他：24時間風呂にて水中分娩後死亡した新生児レジオネラ肺炎の一例。
第209回日本小児科学会東海地方会（名古屋）、
1999年10月

園芸用資材に無関係なレジオネラ肺炎患者から 分離した *Legionella longbeachae*

研究協力者：

豊橋市民病院 中央臨床検査室

豊橋市民病院 中央臨床検査室

山口育男

山下峻徳

分担研究者：

愛知医科大学 微生物・免疫学教室

藪内英子

A Case of *Legionella longbeachae* Pneumonia Irrelevant to Gardening Materials

Ikuo Yamaguchi¹⁾, Takanori Yamashita¹⁾ and Eiko Yabuuchi²⁾

¹⁾Clinical Laboratory, Toyohashi Municipal Hospital, and ²⁾Department of Microbiology and Immunology, Aichi Medical School

研究要旨

Legionella longbeachae によるものは、近年オーストラリアを中心に報告があるが本邦では入江ら（1984）および岡崎ら（1996）の2症例が報告されているにすぎない。我々は農協出荷業務に携わる56歳男性重症肺炎患者の吸引痰培養で検出した菌を *L. longbeachae* と同定したので報告する。

緒言

Legionella longbeachae による肺炎患者は、近年オーストラリアを中心に報告があるが、本邦ではほとんどない。今回重症肺炎患者の吸引痰培養にて *L. longbeachae* を検出した症例を経験したので報告する。患者は56歳男性で職業は農協の出荷検査業務に従事。平成10年6月12日より乾性咳嗽が出現し、16日朝より呼吸困難が出現し、近医より紹介入院となった。細菌学的検査として入院時の吸引痰（粘性）をチールネルゼン、ギムザ、グラム染色を実施し少量の常在菌を認めるも、炎症の背景は認めなかった。当院では重症肺炎の場合レジオネラ属菌の検索も必須としており、ヒメネス染色ではレジオネラ属菌を疑う菌は認めなかった。培養検査では日常の分離培地（炭酸ガス培養）にGVPC α 寒天培地（35℃大気培養）を追加し、1日目の観察では日常の培地へのみ少量の常在菌の発育（ α -*Streptococcus*, *Neisseria* sp）を認めた。3日目のGVPC α 寒天培地に光沢のあるスムーズな直径1mmの灰白色コロニーが分離された。分離菌はグラム陰性桿菌で、レジオネラ属菌と推定されたが、レジオネラ診断用免疫血清「生研」では、全ての血清型に陰性であった。D DH法により *L. longbeachae* と同定した。経過はほぼ良好であり8月24日完治退院した。本菌は、感染経路として園芸用の腐葉土が考えられているが、今症例においては関連を証明することはできなかった。本菌は培養陽性例が少なく、特に稀な症例と考えられる。

症例

患者：56歳男性

職業：農協の出荷検査業務

主訴：咳嗽、発熱、呼吸困難

既往歴：特記すべきことなく、1日20本を30年の喫煙歴がある。発病前に旅行歴、エアロゾル曝露歴はなく、24時間風呂の使用は確認されていない。

現病歴：1998年6月12日頃より乾性咳嗽が出現し、

近医整形外科にて感冒と診断され投薬治療された。16日朝より呼吸困難が出現し、前医より紹介入院となった。身長165cm、体重61kg 体温38.0℃ 血圧123/82mmHg 脈拍116回/分であった。

【入院時胸部X線写真】

入院時の胸部X線写真は、右肺はほぼ全肺野、左肺は中肺野から下肺野にかけて強い浸潤影を認めた。



図1 入院時胸部X線写真

【入院時検査所見】

血液ガス分析では、3L/分吸入下でpH 7.418 PaO₂ 37.3mmHg PaCO₂ 39.4mmHgと高度の低酸素血症を認めた。末梢血検査では白血球数15900と増加し、桿状核球66.0% 分節核球33.0%と著明な核の左方移動を認めた。AST 74IU/l ALT 47IU/l T-Bil 2.9mg/dlと肝機能障害を認め、尿蛋白は2+、尿潜血は1+であった（表1）。

表1 入院時検査所見

| | | |
|----------------------------|------------------------------|--------------|
| ●体温 38.0℃ | RBC 479×10 ⁴ /μl | CPK 55IU/l |
| ●血圧 123/82mmHg | Hb 13.4g/dl | TP 6.3g/dl |
| ●血液ガス分析 | Hct 40.2% | Alb 3.0g/dl |
| pH 7.418 | Pft 27.7×10 ⁴ /μl | BUN 19mg/dl |
| PaO ₂ 37.3mmHg | ●血液生化学的検査 | CRN 1.1mg/dl |
| PaCO ₂ 39.4mmHg | AST 74 IU/l | Na 144mEq/l |
| HCO ₃ 25.0mEq/l | ALT 47 IU/l | K 3.3mEq/l |
| SaO ₂ 66.2% | T-Bil 2.9mg/dl | Cl 100mEq/l |
| ●末梢血検査 | γ-GTP 380IU/l | Ca 3.9mEq/l |
| WBC 15900/μl | ALP 878IU/l | ●尿検査 |
| 桿状核球 66.0% | LDH 372IU/l | タンパク 2+ |
| 分節核球 33.0% | CHE 145IU/l | 糖 - |
| リンパ球 1.0% | AMY 63 IU/l | 潜血 1+ |

CRP 43.5mg/dlと非常に高度の炎症反応を認めた。しかし、マイコプラズマ抗体、寒冷凝集反応、オーム病クラミジア抗体、レジオネラニューモフィラ抗体はすべて陰性であり、各種気道感染症ウイルス抗体価はパラインフルエンザ3型が2,048倍と高

値を示していた。またレジオネラ尿中抗原 (Biotest *Legionella* Urine Antigen EIA) は、陰性であった (表 2)。

表 2 入院時検査所見

| ●血清免疫学的検査 | | ●ウイルス抗体価 | |
|-----------------------------------|-----------|--------------|------|
| CRP | 43.5mg/d | インフルエンザA | 4 > |
| IgG | 975mg/d | インフルエンザB | 8 |
| IgA | 312mg/dl | パラインフルエンザ2 | 128 |
| IgM | 83mg/dl | パラインフルエンザ3 | 2048 |
| IgE | 200.0U/ml | アデノウイルス | 8 |
| ●血液生化学的抗体 | | 単純ヘルペスウイルス | 1 6 |
| マイコプラズマ抗体 | 陰性 | 水痘帯状ヘルペスウイルス | 4 > |
| 寒冷凝集反応 | 陰性 | RSウイルス | 8 |
| オーム病クラミジア抗体 | 陰性 | サイトメガロウイルス | 8 |
| レジオネラ (<i>L.pneumophila</i>) 抗体 | 陰性 | ●レジオネラ尿中抗原 | 陰性 |

【細菌学的検査】

当院では症状記入欄に重症肺炎の記載がある場合は、レジオネラ属菌の検索も必須としている。塗抹検査では、粘性の吸引痰を通常実施しているのチールネルゼン、ギムザ、グラム染色の3法を実施し、少量の常在菌と思われる菌のみを認め、材料の炎症性背景は認められなかった。また、ヒメネス染色においても赤染される菌を確認できなかった。また培養検査では、日常の分離培養として5%ヒツジ血液寒天培地 (極東・炭酸ガス培養)、チョコレート寒天培地 (極東・炭酸ガス培養)、BTB乳糖加寒天培地 (栄研化学・大気培養) を用いて炭酸ガス培養を実施した。臨床症状よりレジオネラ属菌培養の目的で常法の酸処理後、GVPC α 寒天培地 (日研生物) を追加した。1日目の観察では日常の培地にのみ少量の常在菌の発育を認めた。3日目のGVPC α 寒天培地に光沢のあるスムーズな直径1mmの灰白色コロニーの発育を少量認めた (図 2)。

培養3日目以降に出現したコロニーで上記の特徴的な形態、臭いを示すものを釣菌し再び血液寒天培

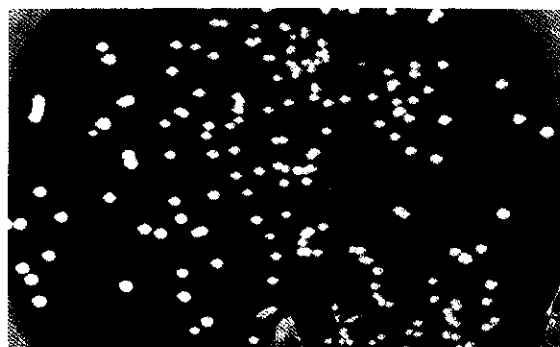


図 2 *L. longbeachae* 灰白色コロニー

地とGVPC α 寒天培地に接種しその発育性を確認した。発育菌はグラム陰性桿菌で、カタラーゼ試験陽性、チトクロームオキシダーゼ試験陽性であり、レジオネラ診断用免疫血清「生研」(デンカ生研) では、*L. pneumophila* を含む全ての血清型に陰性であった。本菌がレジオネラ属菌であると強く疑われたが、同定困難のため愛知医科大学微生物・免疫学教室藪内英子先生に依頼し、マイクロプレートDNA-DNAハイブリダイゼーション法 (DDHレジオネラ「極東」) により、*L. longbeachae* と同定した。後日、当院においても同様の結果を得た (表 3・図 3)。

表 3 細菌学的検査

| グラム染色 | グラム陰性桿菌 | |
|-------------------------|---------|--------------------------------|
| カタラーゼ試験 | 陽性 | |
| チトクロームオキシダーゼ試験 | 陽性 | |
| ●レジオネラ免疫血清「生研」 | | |
| <i>L.pneumophila</i> 1型 | 陰性 | <i>Legionella bozemanii</i> 陰性 |
| <i>L.pneumophila</i> 2型 | 陰性 | <i>Legionella dumoffii</i> 陰性 |
| <i>L.pneumophila</i> 3型 | 陰性 | <i>Legionella micdadei</i> 陰性 |
| <i>L.pneumophila</i> 4型 | 陰性 | <i>Legionella gormanii</i> 陰性 |
| <i>L.pneumophila</i> 5型 | 陰性 | |
| <i>L.pneumophila</i> 6型 | 陰性 | |
| ●DDHレジオネラ「極東」 | | <i>Legionella longbeachae</i> |

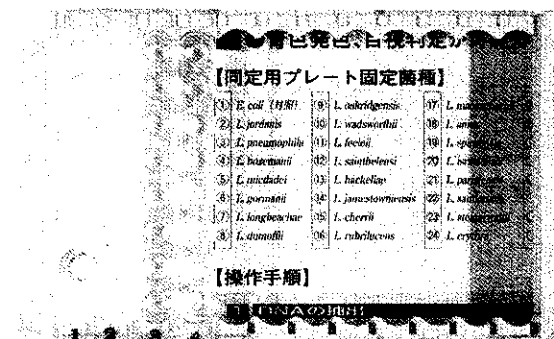


図 3 DDHレジオネラ「極東」

【臨床経過】

重症呼吸不全にて呼吸管理を実施し、PAPM/ BP, EM, RFPを投与した。途中、*Candida albicans* によるカテーテル感染や偽膜性腸炎を併発したが、経過はほぼ良好であり8月24日完治退院した (図 4)。

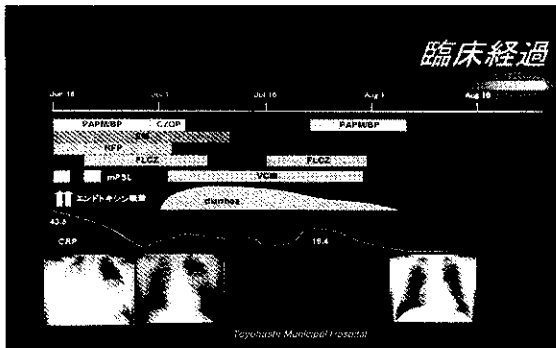


図4 臨床経過

考 察

L. longbeachae による感染事例を報告した。本菌は、1981年アメリカ、カリフォルニア州ロングビーチで発見されたものが初例であり、近年ではオーストラリアからの報告が多くされている。(1988年から1989年に南オーストラリアで集団発生し23例が報告されている。)感染経路として園芸用の腐葉土が考えられているが、今回報告した症例は、旅行歴はなく園芸用腐葉土、造園との明らかな関連は認められなかった。

結 論

本菌は培養陽性例が少なく、特に市販の免疫血清がないことから同定が困難なことも考えられる。今後、*L. pneumophila* 以外にもいくつかのレジオネラ感染が考えられ注意が必要であると思われた。

発 表

学会：

山口育男，山下峻徳，他：本邦で希な *Legionella longbeachae* 分離例．第48回日本臨床衛生検査学会（広島），1999年5月．

文 献

1. 薮内英子：レジオネラ属菌分離分離菌株の同定．臨床と微生物 25：11-16，1998
2. 厚生省レジオネラ肺炎診断基準と診断・検査及び治療指針．厚生省レジオネラ症研究会班，1992
3. 山口恵三，館田一博，石井良和，他：*Legionella* 肺炎の診断法と臨床的特徴に関する検討．感染症誌 71:634-643，1997
4. 岡崎美樹，小出道夫，斎藤 厚：造園業者に発症した *Legionella longbeachae* 肺炎の1例．感染症誌 72:1076-1079，1998
5. 入江誠治，赤木克巳，斎藤 厚：本邦ではじめての *Legionella longbeachae* による肺炎の1例．感染症誌 72:1,076-1,079，1998

膿瘍を形成した *Legionella* 肺炎の 2 例

研究協力者：

中頭病院内科

宮良高維、渡嘉敷かおり、下地 勉、玉城和則
粟国尚子、林 正樹、石原 淳、祝嶺千明

同 病 理

新垣京子

同 検 査 科

古謝幸恵

主任研究者：

琉球大学医学部内科学講座第一

斎藤 厚

Two Cases of *Legionella* Pneumonia Causing of Pulmonary Abscess

Takayuki Miyara¹⁾, Kaori Tokashiki¹⁾, Tsutomu Shimoji¹⁾, Kazunori Tamaki¹⁾,
Shoko Aguni¹⁾, Masaki Hayashi¹⁾, Jun Ishihara¹⁾, Chiaki Syukumine¹⁾, Kyoko
Arakaki²⁾, Sachie Kojya³⁾, and Atsushi Saito⁴⁾

¹⁾Internal Medicine, ²⁾Clinical Pathology, and ³⁾Clinical Laboratory, Nakagami
General Hospital, ⁴⁾First Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine,
University of the Ryukyus

研究要旨

我々は免疫抑制状態に発症した 2 例のレジオネラ肺炎症例を経験した。症例 1 は 30 歳女性で、潰瘍性大腸炎に対してステロイド投与中であった。左上肺野に結節性陰影が出現したのは入院後 45 日目であり、喀出痰より *L. pneumophila* serogroup 1 が純培養で分離された。erythromycin, rifampicin, levofloxacin による治療が奏功し、独歩で退院している。感染源としては院内のシャワーが疑われたが、診断後に給湯設備から菌は分離されず、感染源としての確証は得られていない。また症例 2 は 78 歳男性で、剖検により IgM 産生能を有するリンパ形質細胞性リンパ腫と診断された。入院後 9 日目から左上肺野に結節性陰影が出現し、急速に拡大して空洞を形成した。急性腎不全による不整脈で死亡したが、剖検で左上葉の肺膿瘍内容物から *L. pneumophila* serogroup 5 が *Enterococcus faecium*, *Prevotella intermedia* と共に分離された。

両症例とも陰影の出現時は辺縁が比較的整った結節性病変を示しており、経過と共に急速に拡大し膿瘍を形成した。このような陰影の経過を示すレジオネラ症は本邦では稀であるが、免疫抑制状態の症例におけるレジオネラ症として欧米においては報告がみられ、特徴的所見と考えられた。また、症例 2 においてはレジオネラによる膿瘍形成に口腔内容物の吸引に伴う複数菌感染の機序が関連する可能性が示唆された。

入院後の発症期間から考えると症例 1 は院内感染例であり、症例 2 は院内感染を強く疑われる例であった。免疫抑制症例に対しては個別院内感染対策が必要と考えられた。

緒言

免疫抑制状態の症例で、肺野の結節性病変で発症したレジオネラ症を2例経験したが、発症時には鑑別診断としてレジオネラ症の可能性は低いと考えていた。また症例1は院内感染例で、症例2は院内での感染の可能性が高く、免疫抑制状態の症例の院内感染対策を作成した。

症例

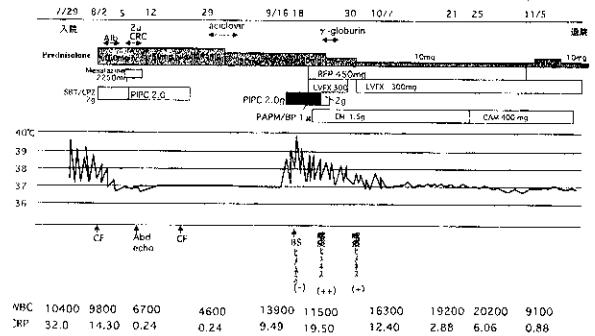
症例1：30歳、女性

主訴：発熱（38℃）、下痢、腹痛

身長155.8cm、体重41.5kg、WBC 10,400/ μ l、CRP 3.2 mg/dl、Hb 7.1g/dlであった。当院に入院後、内視鏡検査で潰瘍性大腸炎と診断され、これに対し

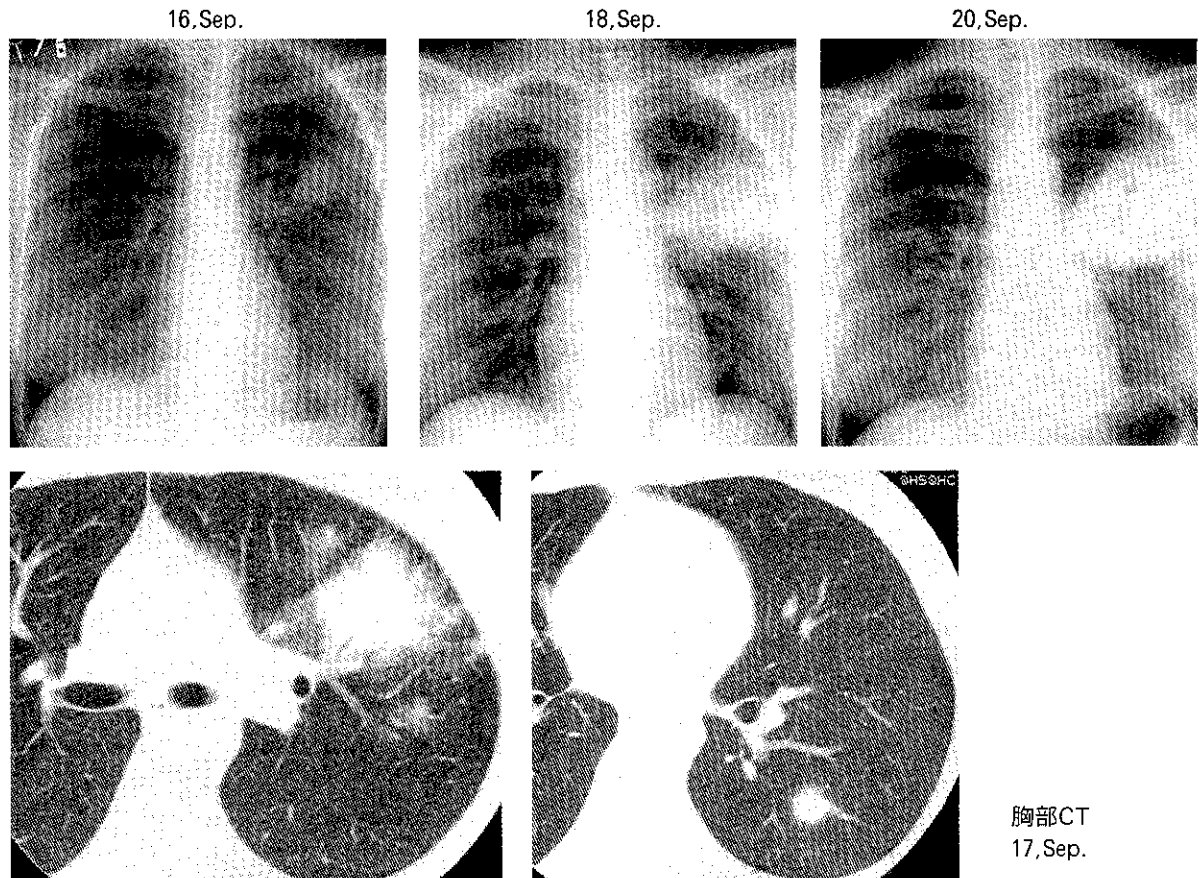
平成11年8月2日よりプレドニロン60mg/dayの投与が開始された（表1）。その後1～2週間毎にプレドニロンを漸減したが、投与開始後27日目より带状疱疹が左胸部に出現し、アシクロビルで治療されている。

表1 症例1の経過



プレドニロンを投与開始して45日目である平成11年9月15日に38.8℃の発熱があり、軽い咳嗽と吸気時の左胸痛を自覚するようになった。翌16日の胸部単純写真（図1）では左の上肺野に辺縁が比較的

図1；胸部画像の経過(1)（症例1）



胸部CT
17.Sep.

整の結節影を認めた。9月17日のCTでは左S3の結節影の他にS6にも結節影を認め、血行性播種あるいは経気道散布による多発性肺膿瘍を疑った。この時点で39℃を越える発熱を認め、白血球数が13,900/ μ l CRPが9.49 mg/dlと上昇していた。

起炎菌決定のために9月18日に気管支内視鏡により病変部の擦過および気管支洗浄液を採取したが有意な菌は得られず、ヒメネス染色も陰性であった。

また陰影はこの2日間で急速に拡大したため抗菌薬をpanipenem/betamipron 1.0g/dayに変更されている。

病変に空洞形成を認めてから喀痰が喀出されるようになり、9月24日の喀痰でヒメネス染色が陽性となった。この検体から *Legionella pneumophila* serogroup 1 が純培養で分離された。ヒメネス染色が陽性となった時点から治療はerythromycin (EM) 1.5g/day, levofloxacin (LVFX) 300mg/day, rifampicin (RFP) 450mg/day の併用療法に変更した。

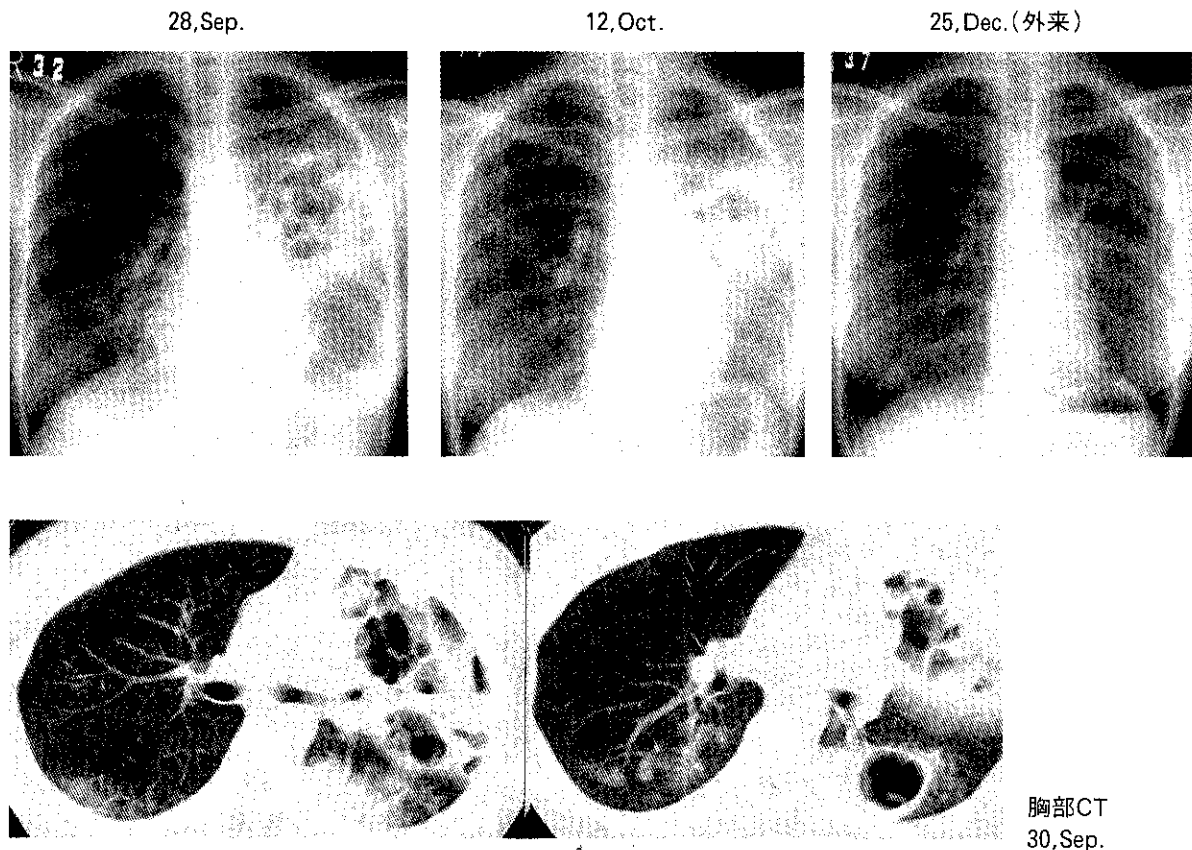
経過中に琉球大学第一内科に依頼し、PCRによる *L. pneumophila* 特異遺伝子の検出、尿中特異抗原検査を施行した(表2)。PCRは喀痰および胸水

表2 各検査結果の推移(症例1)

| | 9/24 | 10/12 | 10/14 | 10/26 | 11/20 | 12/13(外来) |
|-----|-------------|-------|--|-------|-------|--|
| 喀出痰 | PCR (+) | | | | | |
| | 培養 (+) | | | | | |
| 血清 | Binax (+) | | | | | |
| | Biotest (-) | | | | | |
| | NOW (+) | | | | | |
| | 抗体価 | | SG-1 : <32 SG-1~3 : x 32 SG-4~6 : x 64 SG-8~10 : x 64 | | | SG-1 : x 256 SG-1~3 : x 256 SG-4~6 : x 256 SG-8~10 : < 64 |
| 尿 | Binax (+) | | (+) | (+) | | (+) |
| | Biotest (+) | | (+) | (-) | | (-) |
| | NOW (+) | | (+) | (+) | | (+) |

で陽性。特異抗原検出はBiotest社のキットとBinax社の従来法に加えて簡易法のNOWキットの3方法で施行した。結果は表2に示したように、尿と胸水は両社で陽性、Binax社のキットにおいては

図2 ; 胸部画像の経過(2) (症例1)



大したため起炎菌決定のために9月21日に気管支鏡検査を施行した。この時点では39から40℃を越える発熱を認め、白血球数は23300/ μ l、CRPは20.9 mg/dlと著しい上昇を認めた。気管支肺胞洗浄液のヒメネス染色は陰性で、レジオネラの培養も陰性であった。9月30日からは陰影内部に空洞形成を認め(図3)、陰影自体は改善傾向にあったが、経過中に再度発熱があり、10月8日に急性腎不全および肝機能障害で死亡した。同日に行われた病理解剖の結果、基礎疾患はIgM産生能を有するリンパ形質細胞性リンパ腫と診断された。また胸部画像上認められた左肺上葉の膿瘍の外観を図4に示した。割を入れると黄茶色の膿汁を含み、この検体のヒメネス染色で多数の桿菌を認めた。培養で、*Legionella pneumophila* serogroup 5が分離された他に、*Enterococcus faecium*、*Prevotella intermedia*が同時に分離された。

図4；症例2の剖検肺所見



左肺外側面



左上葉外側

症例の比較

症例1と2の比較を表4に示した。今回経験したレジオネラ肺炎の2症例とも経過中に結節影から始まり、急速に陰影が拡大し、膿瘍を形成した。両症例とも免疫能の低下が考えられ、2~10日というレジオネラの潜伏期間と陰影出現までの期間を併せると症例1は院内発症が確定的であり、症例2は院内発症の疑いが強いレジオネラ症であった。感染源としては症例1は院内のシャワーが感染源として最も疑われたが、症例2は全身状態が不良のためシャワーは一度も使用していなかった。

また症例1の発症後、入院していた病棟の給湯系のレジオネラの検出を行ったが陰性であった。

表4 症例の比較

| | 症例1 | 症例2 |
|--------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 基礎疾患 | 潰瘍性大腸炎 ステロイド治療中 | 形質細胞性リンパ腫 |
| 入院後肺野に陰影を確認するまでの日数 | 45日 | 9日目 |
| 院内感染か? | 院内感染 | 院内感染の可能性あり |
| シャワー使用 | 有り | 無し |
| 分離培養された検体種 | 喀痰 | 膿瘍内容物 |
| 菌種・血清型 | <i>L. pneumophila</i> serogroup 1 | <i>L. pneumophila</i> serogroup 5 |

院内環境よりの検出状況および院内感染対策

当院ではクーリングタワー水および院内の給湯設備からの温水の培養を1996年より定期的に外注検査で実施している。これまでにレジオネラが検出された場所と菌量は表5に示した。当院の給湯設備からはレジオネラが少量ながら断続的に分離されているため、病棟における院内感染対策マニュアルを作成した。

これまでの院内環境調査では早朝開栓時の温湯を2分以上流すとレジオネラが陰性化しているため、新生児室の場合は朝の開栓時に、5分程度温湯を放流した後に使用している。また症例1の発症後、

表5 院内環境よりのレジオネラ検出状況

| 1. 新生児室 | | 2. 小児病棟シャワー・洗面所 | 3. クーリングタワー | | |
|-------------|--------------|-----------------|---------------|--------------------|------------------------------------|
| 96.10.23 | L.p. 120 CFU | 97.2.24 (-) | 97.2.24 | L.p. 320 CFU | |
| 97.2.10 (-) | | 97.5.16 (-) | 97.5.29 | L.p. 140 CFU | |
| 97.5.16 (-) | | 97.8.22 (-) | 97.12.8 | L.p. 1108-2540 CFU | |
| 97.8.21 (-) | | 97.12.11 | L.p. 120 CFU | 98.1.30 (-) | |
| 97.10.8 (-) | | 98.1.30 | L.p. 1140 CFU | 98.5.19 | L.p. 12260 CFU |
| 98.2.25 (-) | | 98.3.3 (-) | | 98.12.1 | L.p. 120 CFU |
| 98.6.2 (-) | | 98.6.22 (-) | | 99.2.23 | L.p. 14.4 X10 ⁴ CFU |
| 98.9.14 (-) | | 98.8.7 (-) | | 99.6.1 | L.p. 13.0 X10 ³ CFU |
| 98.11.16 | L.p. 140 CFU | 98.12.9 | L.p. 1260 CFU | 99.6.30 | L.p. 1180 CFU |
| 99.2.25 (-) | | 99.9.28 (-) | | 99.7.1 (-) | |
| 99.6.2 (-) | | 99.10.1 (-) | | 99.9.22 | 台風 |
| 99.9.14 (-) | | | | 99.9.29 | L.p. 5.19 X10 ³ CFU |
| | | | | | L.p. 1620-8.8 X10 ³ CFU |
| | | | | | 99.10.15 (-) |

免疫抑制あるいは低下状態の症例におけるレジオネラ感染予防の目的で、プレドニソロン40mgを2週間以上服用している場合、あるいは抗腫瘍薬投与中などのそれに準ずる免疫抑制状態ではシャワー浴を避けるか、シャワー時間は早朝を避け最初の5分間を放流して使用する院内感染対策マニュアルを作成した。また表5に示す様に、9月22日には台風による強風のため、クーリングタワー内へ消毒液を注入するホースが外れたこと、タワー内へ土砂等が吹き込んだこともあり一時的に菌量の増加をみたが、修理と清掃で改善した。

考 察

今回経験したレジオネラ肺炎の2症例とも免疫能の低下が考えられる症例であり、経過中に結節影から始まり急速に陰影が拡大して空洞を形成した。両症例ともレジオネラの分離培養により診断されたが、結節影の出現時に筆者らは鑑別診断としてレジオネラ肺炎の可能性を極めて低いと考えていた。同様の画像の経過をとるレジオネラ症の症例は欧米からは報告¹⁴⁾されており、両症例の画像所見の経過は免疫抑制状態の症例に発症するレジオネラ症の一型として重要であると考えられた。

また、症例2において膿瘍内容物から *Prevotella* 属、*Enterococcus* 属の菌がレジオネラと共に分離されたことは、本症例の病変形成が咽頭部のレジオネラの気道への吸引で生じたことを示す結果であり、飲料水が関連した可能性、またレジオネラによる膿瘍形成に複数菌が関与する機序の存在も示唆する所

見と考えられた。

レジオネラ肺炎を疑う症例の初期検査として当院では検体のヒメネス染色を用いているが、今回の経験では本染色によるスクリーニングは有用であった。しかし、一般的には気管支内視鏡を用いた病巣部よりの検体採取は下気道感染症において有用な検査とされているにもかかわらず、両症例で気管支洗浄液のヒメネス染色は陰性であった。症例1では膿瘍が気道と交通して初めて喀痰からの染色が陽性となり、症例2では剖検まで陽性とはならなかった。以上の点からはレジオネラ症が疑われる場合は他の検体による他の診断法の併用も重要と考えられる。

レジオネラ尿中抗原検出キットに関しては、症例1では病巣が大きく、菌量が多かったと推測され、血清を検体としても陽性であった。本検査法は検体採取が容易であり、治療後開始後も診断可能な期間が長い有用な検査法であった。

両症例とも感染源としては院内環境が疑われたが、これまでの環境調査の検体を提出していた外注検査機関では分離菌株を保存しておらず、感染源の特定は不可能であった。今後は分離菌株の返却もしくは保存を要請することが必要と考えられ、当院からは分離されたレジオネラ菌株を返送するように依頼した。院内の給湯設備からのレジオネラの除菌に関しては給湯系の温度を上げる等の検討⁹⁾がなされているが、免疫抑制症例に対しては入院時より即座に施行可能な個別の院内感染対策が必要と考えられ、上述の対策を作成した。シャワー、ネブライザーの使用制限については Breiman らの報告⁶⁾、Brady らの報告⁷⁾を参考にしたが、この内容に関しては当院の様に病室内に浴槽が無い等の院内設備の事情に適合するように変更が必要であった。また症例2がシャワーを全く使用していなかったこと、咽頭や口腔内のレジオネラの気道内吸引がレジオネラの院内感染因子と考えられるとの報告^{8,10)}もあることなどから、飲料水に関してもいったん沸騰させたものを飲用するなどの対策が必要と考えられ、現在追加の対策を作成中である。


 結 語

- 1) 免疫抑制症例に結節性病変として発症し、急速に拡大する膿瘍を呈したレジオネラ症の 2 例を経験した。
- 2) 症例 2 からはレジオネラ症における膿瘍性病変の形成に口腔内細菌の関与する複数菌感染の機序も考えられた。
- 3) 免疫抑制症例に対する個別院内感染対策に関しては標準化が必要と考えられた。


 文 献

- 4) Rudin JE, Wing EJ : A comparative study of *Legionella micdadei* and other nosocomial acquired pneumonia. *Chest* 86:675-680, 1984
- 5) Stout JE, Lin YE, Goetz AM, et al: Controlling *Legionella* in hospital water systems: experience with the superheat-and-flush method and copper-silver ionization. *Infect Control Hosp Epidemiol* 19:911-914, 1998
- 6) Breiman RF, Fields BS, Sanden G, et al: Association of shower use with Legionnaires' disease. Possible role of amoebae. *J Am Med Assoc* 263:2924-2926, 1990
- 7) Brady MT : Nosocomial legionnaires disease in a children's hospital. *J Pediatr* 115:46-50, 1989
- 8) Yu VL: Could aspiration be the major mode of transmission for *Legionella*? *Am J Med* 95:13-15, 1993
- 9) Blatte SP, Parkinson MD, Pace E, et al: Nosocomial Legionnaires' disease: Aspiration as a primary mode of disease acquisition. *Am J Med* 95:16-22, 1993
- 10) Jhonson JT, Yu VL, Best MG, et al: Nosocomial legionellosis in surgical patients with head and neck cancer : implications for epidemiological reservoir and mode of transmission. *Lancet* 2:298-300, 1985
- 1) Myelowitz RL, Pasculle AW, Dowling JN et al: Opportunistic lung infection due to "Pittsburg pneumonia agent". *N Eng J Med* 301:953-958, 1979
- 2) Ellis AR, Mayers DL, Martone WJ, et al: Rapidly expanding pulmonary nodule caused by Pittsburg pneumonia agent. *JAMA* 245: 1558-1559, 1981
- 3) Pope TL, Armstrong P, Thompson R, et al: Pittsburg pneumonia agent : Chest film manifestations. *Am J Roentogenol* 138:237-241, 1982