

# レジオネラ症の国内外の動向

国立感染症研究所 主任研究官  
倉 文明

## 1. はじめに

レジオネラ症は細胞内に寄生して増殖するグラム染色陰性の桿菌でレジオネラ属菌 (*Legionella* spp.) による感染症である<sup>1)</sup>。菌を含む水しぶき (エアロゾル) や粉塵を吸入することにより感染して、菌は肺胞マクロファージに侵入し増殖する。その病型には肺炎型と感冒様のポンティアック熱型とがある。高齢者や新生児、および免疫力の低下をきたす疾患を有する者が本症のリスクグループである。ヒトからヒトへの感染はない。レジオネラ肺炎に特有な症状はないため、症状のみでは他の肺炎との鑑別は困難である。治療には、キノロン系やマクロライド系の抗菌薬が使用される。レジオネラ属菌は一般的には水中や湿った土壌中などにアメーバ等の原虫類を宿主として存在し、20～45℃で繁殖し、36℃前後で最もよく繁殖する。

## 2. 患者発生状況

レジオネラ症は4類感染症 (全数把握) であり、診断した場合には直ちに保健所に届ける義務がある。1999年4月に発生動向調査が開始され、患者の届出数は2004年までは年間150例程度であったが、2005年から増加し、新型インフルエンザの大流行があった2009年に一度減少したものの、その後一貫して増加している (図1)。2014年は暫定値ながら1,236例となった。この増加の原因は、検査法の進歩による検出数の増加によると考えられている。すなわち2003年、2004年にそれぞれELISA法とイムノクロマト法という2つの尿中抗原検査キットが保険適用となり、2005年に日本呼吸器学会の成人市中肺炎ガイドラインに検査の目安として中等症以上の肺炎で、レジオネラ尿中抗原検査が記載された。現在では、ELISA法の試薬

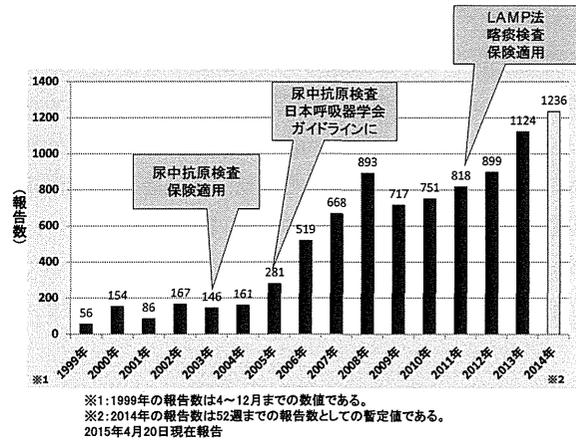


図1 レジオネラ症の年別報告状況 (感染症発生動向調査)

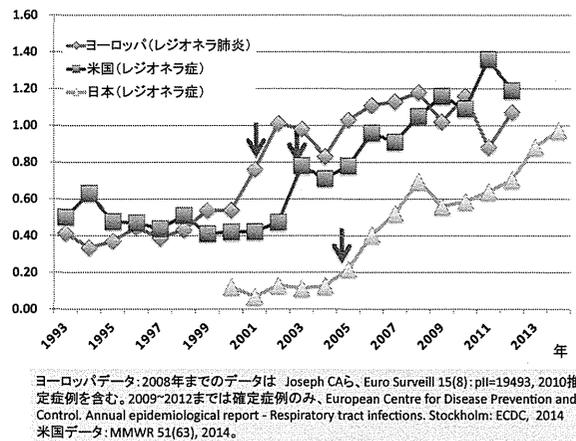


図2 人口10万人当り罹患率の年別推移の国際比較

製造中止により、尿中抗原検査はイムノクロマト法によっている。2011年に遺伝子を検出するLAMP法のキットが保険適用となり、喀痰からレジオネラ属菌全体を検出することが可能となった。これによる届出の増加が予測されている。

人口10万人当りの罹患率でヨーロッパや米国と比較すると、ヨーロッパの集計が肺炎型のみであるという違いはあるが、欧米で約0.5であったものが2001年にまずヨーロッパで急増し、次いで米国で2003年に急増した。日本は調査開始当時約0.1であったものが2005年から急増し、2014年で約1.0となった。2012年の欧米の約1.1～1.2よりやや低い水準である。この急増は、尿中抗原検査の普及によっている(図2)。

### 3. 環境における生息状況

現在、レジオネラ属菌には57種が報告されていて(LPSN bacterio.net: Genus *Legionella* <http://www.bacterio.net/legionella.html>), その内、ヒトから分離あるいはDNAが検出された菌種、肺炎患者で血清抗体価の上昇をもたらした菌種は30種である(表1)。ヒトから分離されていないが、原虫で増殖していてヒトに潜在的に病原性があると考えられているので、

バイオセーフティー・クラスはすべてBSL2である。*Legionella lytica* や *Legionella drancourtii* のように、アメーバで増殖できるが培地で増殖できていない菌種もある。*Legionella yabuuchiae* や *Legionella nagasakiensis* は日本の故、藪内英子氏や長崎にちなんで命名されている。

各種環境水等にどの程度のレジオネラ属菌が検出されるかを表2に示した。本研究班の調査で判明した検出率(表2の出典1, 2, 3, 5)を中心にまとめた。道路の水溜まりやシャワー水(浴用施設)の検出率が高く、次いで浴槽水、冷却塔水、修景水となっている。自動車のウインドウォッシャー液や給水/給湯水、土壌は10%未満であった。多数の加湿器の調査はまだなされておらず検出率は不明である。道路の水溜まりやウインドウォッシャー液が調査されたのは、これまで運転手関連の感染源不明事例が報告されたためである<sup>2)</sup>。なお、ウインドウォッシャー液は界面活性剤を含む専用液ではレジオネラ属菌の増殖はみられない。

表1 *Legionella* 属菌 57 菌種のヒトへの病原性

臨床検体から分離・抗体価上昇菌種		環境からのみ分離された菌種	
<i>L. pneumophila</i> *a)	<i>L. cherrii</i> *b)	<i>L. adelaidensis</i>	<i>L. massiliensis</i>
<i>L. micdadei</i> *a)	<i>L. parisiensis</i>	<i>L. beliardensis</i>	<i>L. moravica</i>
<i>L. longbeachae</i>	● <i>L. lytica</i>	<i>L. brunensis</i>	<i>L. nautarum</i>
<i>L. dumoffii</i>	<i>L. waltersii</i>	<i>L. busanensis</i>	<i>L. quateirensis</i>
<i>L. bozemanae</i> *a)	<i>L. quinlivanii</i> *b)	● <i>L. drancourtii</i>	<i>L. rowbothamii</i>
<i>L. feeleii</i> *a)	<i>L. rubrilucens</i> *b)	<i>L. dresdenensis</i>	<i>L. santicrucis</i>
<i>L. gormanii</i>	<i>L. worsleiensis</i> *b)	<i>L. drozanskii</i>	<i>L. shakespearei</i>
<i>L. hackeliae</i>	<i>L. nagasakiensis</i>	<i>L. erythra</i>	<i>L. spiritensis</i>
<i>L. jordanis</i>	<i>L. steelei</i>	<i>L. fairfieldensis</i>	<i>L. steigerwaltii</i>
<i>L. sainthelensii</i>	<i>L. jamestowniensis</i>	<i>L. fallonii</i>	<i>L. taurinensis</i>
<i>L. maceachernii</i>	<i>L. londiniensis</i>	<i>L. geestiana</i>	<i>L. tunisiensis</i>
<i>L. oakridgensis</i>	<i>L. cardiaca</i>	<i>L. gratiana</i>	<i>L. yabuuchiae</i>
<i>L. wadsworthii</i>		<i>L. gresilensis</i>	
<i>L. birminghamensis</i>		<i>L. impletisoli</i>	
<i>L. cincinnatiensis</i> *a)		<i>L. israelensis</i>	
<i>L. anisa</i> *a)			
<i>L. tucsonensis</i>			
<i>L. lansingensis</i>			

30種がヒトから分離  
抗体価上昇

\*a): ポンティアック熱の集団発生を引き起こした菌種

\*b): 肺炎患者で抗体力価上昇

● アメーバ中で増殖するが培地で増殖せず。

■ : 長波長紫外線照射により青白色の蛍光を発する。

□ : 長波長紫外線照射により暗赤色の蛍光を発する。

表2 各種環境水等におけるレジオネラ属菌陽性率

	陽性率 (≥10cfu/100mL)	検体数	調査年	出典
水溜まり	47.8%	69	2010~2011	1
シャワー水	29.4%	51	2006~2013	2
浴槽水	22.8%	188 (内 原水 39)	2013	3
冷却塔水	21.8%	8503	2012	3
修景水	18.3%	82	2000	4
ウインド ウォッシャー液	9.3%	193	2012~2013	5
給水/給湯水	8.8%	80 (20 瞬間式, 20 貯湯式, 40 循環式)	1992~1994	6
土壌	6.3%	1362	2001	7
加湿器	?			

- 1: 金谷潤一ら, Appl Environment Microbiol, 2013, p3959
- 2: 金谷潤一ら, 平成 26 年度第 41 回日本防菌防黴学会年次大会講演要旨, p250 公衆浴場
- 3: 倉 文明(研究代表者), 平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金, 健康安全・危機管理対策総合研究事業
- 4: 小川 博(研究代表者), 平成 12 年度厚生科学研究費補助金, 生活安全総合研究事業
- 5: 磯部順子ら, 平成 26 年度第 41 回日本防菌防黴学会年次大会講演要旨, p254
- 6: 古畑勝則ら, 1994, 日本公衛誌, p 1073
- 7: 古畑勝則ら, 2002, 防菌防黴, p 555 アメーバ培養法

## 4. 検査法

### 4.1 環境検体からの検出

#### 4.1.1 培養法 (斜光法)

レジオネラ属菌は, BCYE-*a* という専用の培地を使用する必要がある, しかも増殖が遅く培養に時間がかかる。しかしながら, 実体顕微鏡を用いてコロニー観察し, その特徴的なモザイク用コロニーの外観を観察すること, コロニー由来の DNA 検査を合わせて実施すること, 長波紫外線 (365nm) 下の青色自発蛍光観察と組み合わせることによって多様性のあるレジオネラの菌株を, 3 日目まで培養を短縮し分離できる<sup>3)</sup>。この実体顕微鏡による観察法の研修会は好評で, 濃縮・非濃縮検体と無処理・熱処理・酸処理を組み合わせた 6 通りの試料の培養を行う標準的な検査法として, 感染源調査の行政検査等に利用されている。一方, 民間検査機関の標準的な検査法については, 今後作成する民間検査機関向け研修会のマニュアルで本研究班では具体化することとしている。

#### 4.1.2 遺伝子迅速検査

平成 27 年 3 月末に厚生労働省のレジオネラ対策のホームページで, 「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」が厚生労働省健康局生活衛生課長通知として改正された<sup>4)</sup>。Q&A として迅速検査の利用が記載されている内容を表 3, 表 4 にまとめ

表 3 レジオネラ迅速検査法 (遺伝子検査法) の活用

- 培養検査法は結果が得られるまでに 7 日~10 日\*を要しますが, 迅速検査法(遺伝子検査法)は採水当日あるいは翌日に判定が可能であり, 現在いくつかの市販検査キットが利用可能です。
- 迅速検査法は死菌の DNA を検出する可能性があることなどの理由から, 最終的にレジオネラ属菌の有無は培養検査法で判定する必要があります。
- 迅速検査法では結果が迅速に得られるため, 現在は主に次の目的で使用されています。
  - ・患者発生時の感染源調査(原因究明)
  - ・改善措置後の陰性確認検査(営業再開の目安)
  - ・洗浄効果の判定(陰性証明)等

\*斜光法とコロニーの遺伝子検査/血清学的検査により 3 日目で短縮できる例もある。

表 4 レジオネラ迅速検査法 (遺伝子検査法) の活用 2

- 迅速検査法には, 菌の生死に関わらず遺伝子を検出する方法(生菌死菌検出法)と, 生菌由来の遺伝子のみを検出する方法(生菌検出法)の 2 種類があり, それぞれ結果の解釈には注意が必要です。
- (生菌死菌検出法)は, 死菌由来の遺伝子も増幅対象とするため, 遺伝子検査法が陽性でも培養検査法が陰性になる場合がありますが, 採水当日に結果が判明し, 死菌の存在を潜在的なリスクとして評価することが可能です。
- (生菌検出法)は, 液体培養による生菌の選択的増殖と, 化学修飾による死菌由来 DNA の増幅抑制を組み合わせたもので, 採水翌日に培養検査結果の予測が可能ですが, 菌数が少ない場合には培養検査の結果と食い違う場合があることがわかっています。
- いずれにしても, これらの特徴を理解したうえで, 培養検査法と組み合わせて使用するのが良いでしょう。

た。塩素消毒すると菌は増殖できなくなり培養法で不検出となるが、核酸はしばらく残り検出される（図3）。レジオネラの核酸が検出されることは、レジオネラの増殖する環境が存在したことを示唆し、洗浄効果の判定（陰性証明）とともに衛生管理に役立てることができる。

#### 洗浄効果の判定（陰性証明）に

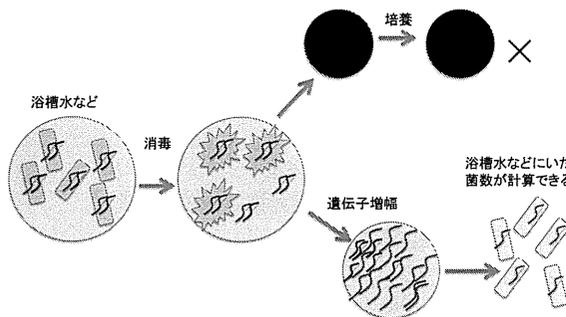


図3 定量的遺伝子迅速検査による消毒後の菌数測定

遺伝子増幅による生菌の選択的な検出は、ethidium-monoazide (EMA) 処理により死菌由来DNAの増幅を抑制することで実現され、培養法との相関という意味では冷却塔水より浴槽水の検査に適している<sup>5, 6)</sup>。さらに18時間液体培養によって、生菌のDNAを増幅する手順を加えたのがLiquid-culture (LC) EMA qPCR法である。試薬はキットとして入手できる。主に循環式浴槽水などの実試料176検体を用いて、LC EMA qPCR法について、平板培養法による10CFU/100ml以上の検体を検出するカットオフ値として1CFU/100ml相当を用いて解析を行った結果、平板培養法に対する感度は89.5% (51/57検体)、特異度は73.9% (88/119検体)であり、平板培養法と高い相関を示した<sup>7)</sup>。

176検体の内、LAMP法およびLC EMA qPCR法を両方実施した98検体について、平板培養法に対する感度、特異度をそれぞれ比較した結果、LAMP法の平板培養法に対する感度は77.5% (31/40検体)、特異度は69.0% (40/58検体)であった。一方、LC EMA qPCR法の平板培養法に対する感度・特異度は、いずれもLAMP法より高かった。

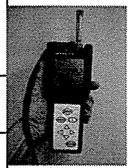
LC EMA qPCR法と平板培養法の菌数（定量値）の比較では、 $R^2=0.6176$ と高い相関を示し、全体として平板培養法の菌数を反映していた。主に循環式浴槽水を対象とした場合、LC EMA qPCR法は、カットオフ値1CFU/100ml相当を用いることで平板培養法

と高い相関を示す迅速検査法であることが示された。

#### 4.1.3 ATP測定を利用した衛生管理

浴槽水中のレジオネラ属菌が増殖するには、ヒト由来の老廃物の増加→一般細菌や従属栄養細菌の増加→それらを捕食するアメーバの増加→アメーバ中で増えるレジオネラ属菌の増加という流れがある。そこでATPを利用して日常的にバイオフィームや浴槽水中の菌数を管理すれば、レジオネラ検出率を低くすることが可能である。研究班では図4のようにATPによる相対発光値 (RLU) を閾値以下に保つことによりレジオネラの汚染リスクを下げる衛生管理法を例示した。

	測定量	閾値 カウント (RLU)	レジオネラ汚染 率変化
浴槽壁	10cm×10cm 拭い	1000	28%から65%
浴槽水	0.1mL	50	19%から49%



現場で測定

閾値以上で  
汚染率が上昇

図4 ATPを指標にしたレジオネラ対策のための浴槽の衛生管理

#### 4.2 臨床検体からの検出

レジオネラ症の96%は、発生動向調査において尿中抗原陽性により届出られている<sup>1)</sup>。ただしこの検査は、*L. pneumophila* SG1の感染の検出に限られる。今後は広くレジオネラ属菌を検出できるLAMP法のような遺伝子検査が普及してくるであろう。届出に必要な診断のための検査法は、文献8で具体的に解説したので参照されたい。

### 5. 国内事例

#### 5.1 散発事例

日本では7月にレジオネラ症の患者が多く<sup>1)</sup>、梅雨期の温度と湿度が菌の増殖に都合がよいためと考えられている。湿度とレジオネラ症患者の発生との相関を示す報告は海外にも多くみられる。

家庭の24時間風呂で感染した事例、少数の菌でも感染する溺水事例、24時間風呂における水中出産による新生児感染事例は文献9で、腐葉土からの感染事

例、高圧洗浄機を使用して感染した事例、超音波加湿器による感染事例、公衆浴場のシャワーからの感染事例、太陽熱温水器を利用した給湯系からの感染事例は文献10で紹介した。

日本では浴槽水からの感染事例が多く報告されているが、冷却塔水からの事例も少数ではあるが報告されている(表5)。

東日本大震災時の津波に巻き込まれたり、がれき関連作業でレジオネラ症に感染したとおもわれる事例も

表5 日本における冷却塔からの感染事例

1: 松田正法ら, 病院内冷却塔からのレジオネラ感染疑い事例—福岡市. 病原微生物検出情報. 36:13-4, 2015, 病院
2: Osawa K, case of nosocomial <i>Legionella pneumonia</i> associated with a contaminated hospital cooling tower. J Infect Chemother. 2014 Jan;20(1):68-70. doi:10.1016/j.jiac.2013.07.007. 病院
3: 蕨内英子ら, <i>Legionella pneumophila</i> serogroup 7 による Pontiac fever の集団発生例 II. 疫学調査結果. 感染症学雑誌. 1995 69(6):654-65. 研修所, ポンティアック熱の集団発生
4: Isozumi R, An outbreak of <i>Legionella pneumonia</i> originating from a cooling tower. Scand J Infect Dis. 2005;37(10):709-11. 廃棄物処理施設

8例報告されている<sup>11)</sup>。

## 5.2 集団感染事例

表6に、日本における2008年以降の集団感染の9事例を示した。1事例あたり2～9の確定症例が報告されている。施設は温泉、スポーツクラブ、ホテルと多様であるが、高齢者福祉施設の事例を除きすべて入浴設備が感染源となっているのが特徴である。

それより以前の、冷却塔によるポンティアック熱の集団感染事例(1994年)、循環式浴槽の入浴施設における本邦最大の集団感染事例(2002年)、自然石のろ材に入り込んで増殖した菌による客船での集団感染事例(2003年)については文献9を参照されたい。

かつて2000年と2002年には循環式浴槽を感染源とした確定症例23例～46例の集団感染が3事例発生し、塩素消毒が強化されて「浴槽水の消毒に当たっては、塩素系薬剤を使用し、浴槽水中の遊離残留塩素濃度を頻繁に測定して、通常0.2～0.4mg/Lに保ち、かつ、遊離残留塩素濃度は最大1.0mg/Lを超えないように努めること」<sup>12)</sup>とされた。かつての大規模な集団感染事例は見られなくなったが、8～9症例の集団感染事例が最近散見され、衛生管理に注意する必要がある。

表6 日本における最近のレジオネラ症集団感染事例

発症年月	都道府県	施設・感染源	確定患者数	原因菌
2008年1月	兵庫	温泉施設	2	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2008年7月	岡山	高齢者福祉施設	2	<i>L. pneumophila</i> 血清群1?
2009年9-10月	岐阜	ホテルの入浴設備	8	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2011年8-9月	神奈川	スポーツクラブの入浴設備	9	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2012年11月	山形	旅館の入浴設備	3	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2012年11-12月	埼玉	温泉施設	9	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2013年4月	宮崎	高齢者福祉施設・循環式浴槽	2	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2014年5月	埼玉	温泉施設	3	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2014年8月	静岡	温泉施設	8	<i>L. pneumophila</i> 血清群1

## 6. 海外事例

### 6.1 散発事例

海外では、日本ではまだ報告されていない菌の治療に関連して感染した事例が、イタリアの歯科治療院<sup>13)</sup>、スウェーデンの大学病院歯科(Jemberg Cら, OR-3, 2ESGLI congress, 2014)でレジオネラ症患者各1名が発生したことが報告されている。

同様に日本で報告されていない、粉ミルクによる新生児の感染事例<sup>14)</sup>が台湾で報告されている。

台湾の感染事例では2013年4月、11月に2つの病院で各1例の新生児がレジオネラ肺炎に罹患した(その後回復した)<sup>14)</sup>。喀痰から*Legionella pneumophila* SG(血清群)5菌とSG1がそれぞれ分離された。*L. pneumophila* SG1が分離された事例では、尿中抗原陽性であった。新生児から分離された菌と遺伝子型が

一致した環境由来の菌は、ミルクの調製に使用した給水機からのみ分離され、粉ミルクから調整したミルクの誤嚥による肺炎と考えられた。菌数はそれぞれ22,000cfu/L, 200cfu/Lであった。その後、給水/給湯機は、給湯機に置き換えられ、感染は起きていない。

その他、散発感染事例（セルフサービスの自動車の洗浄設備、電話線のマンホール）とその対策は別の文献を参照されたい<sup>10)</sup>。なお、国内では1999年に家庭における循環式浴槽利用の水中出産による新生児感染事例があったが<sup>9)</sup>、海外では、同年1999年のイタリアの病院における水中出産感染事例の他、2014年に、英国や米国の家庭での感染事例<sup>15)</sup>が報告された。英国では、水中出産において、ヒーターとポンプ付きの浴槽の使用停止が勧告された。

## 6.2 集団感染事例

海外の大規模な集団感染事例では、入浴設備による感染は少数で、冷却塔を感染源とするものが多い。50名以上の患者の報告された事例は少なくとも34件あり、感染源は、冷却塔・空調関連16件(47%)、渦流浴等循環式浴槽6件(18%)、噴水と掘削各2件、冷却潤滑液、加湿器、給湯設備各1件、不明が5件となっている。冷却塔・空調関連が多いのが海外の特色で

ある。ポンティアック熱の集団発生も8件あった。起因菌が特定され報告された集団発生のうち、24/29(83%)が*L. pneumophila* SG1による。

表7には2000年以降の事例を示した。17事例の内、12事例が冷却塔や空調設備が感染源として報告されている。確定症例数の多かった上位4つの集団感染事例は1事例当たり179症例～449症例でスペイン、ポルトガル、カナダ、英国で発生した。

一例として、最近のポルトガル Vila Franca de Xira の事例を詳しく紹介する<sup>16)</sup>。11月7日に、24時間以内に2つの病院に18人の患者が入院したという届出があり集団感染が検知された。緊急対応として翌8日に消毒のための塩素濃度が上げられ、公衆プール、循環風呂、噴水の稼働が停止された。確定症例334例、内10人死亡（さらに2死亡例を調査中）でポルトガルで最大の集団感染事例となった。患者の67%が男性で、年齢中央値58歳(25-92歳)、すべて尿中抗原陽性であった。Sequence-based typingによる起因菌の遺伝子型はST1905(我々の分類で冷却塔C2グループ、文献17)が患者12例の検体から分離され、環境分離株とST(sequence type)が一致した。可能性の高い感染源は、産業用の水冷式冷却塔であった。最初の患者は、2週間前に冷却塔の維持管理に従事していた。この地域では、10月18日～11月1日

表7 最近の海外のレジオネラ症大規模集団感染事例

年月	国名	施設	感染源	患者数	確定症例数	死亡者数	
1 2000	オーストラリア	水族館	冷却塔		125	4	LpSG1
2 2000	スペイン		冷却塔		54	3	LpSG1
3 2001	スペイン	病院	冷却塔	>800	449	6	LpSG1
4 2002	米国	レストラン	装飾用噴水	117	11	0	L.anisa
5 2002	米国	ホテル	渦流浴(循環式)	50	0	0	L.micdadei
6 2002	英国	娯楽センター	空調設備		179	7	LpSG1
7 2002	スペイン	製氷工場	冷却塔	151	113	2	LpSG1
8 2003-2004	フランス	工場	冷却塔		86	18	LpSG1
9 2004	米国	ホテル	(循環式)	107	>30	0	LpSG1
10 2005	ノルウェー	リグニン製造工場	空気洗浄のための冷却設備		55	10	LpSG1
11 2006	スペイン	市センター	冷却塔		146	0	LpSG1
12 2006	英国	レジャー施設	渦流浴(循環式)	118	5	0	LpSG1
13 2007	ロシア	町の給水設備	給水設備	130	74	5	LpSG1
14 2009-2010	ドイツ	醸造排水処理プラント	冷却塔		65	5	LpSG1
15 2012	英国	蒸溜所?	冷却塔?	101	53	3	LpSG1
16 2012	カナダ	事務所用ビル	冷却塔		182	13	LpSG1
17 2014	ポルトガル	?	冷却塔	417	334	10+2?	LpSG1

Pontiac fever, 少数の肺炎も

には2～3m/sの北東の風が吹いていて、それに沿って患者が発生分布した。

その他、集団感染事例とその対策事例のうち、米国のレストランの噴水、スペインの道路の切削機と散水、ノルウェーの木材の生物処理工場の酸化池と河川の汚染については、文献10で紹介した。キプロスの病院で発生した超音波加湿器による集団感染事例、英国の小売店に展示された循環式浴槽による集団感染事例、米国の病院玄関ロビーの修景水による感染事例、英国エディンバラで冷却塔が感染源と疑われる集団感染事例、2012年カナダ最大の冷却塔による集団感染事例については文献13を参照されたい。

## 7. 外部精度管理

培養法による水中のレジオネラ属菌の検査は行政検査として保健所等で、また自主検査として民間検査機関等で実施されている。適切に検査されず非検出あるいは検出される菌数が少ない検査機関に検体が集まることのないように、検査機関の外部精度管理が必要であるが、日本では今のところ研究班以外にレジオネラの外部精度管理は実施されていない。一方、ヨーロッパ等ではHealth Protection Englandにより、米国では米国CDCにより実施されている。研究班では、レジオネラ属菌の培養検査法の安定化に向けた取り組みとして、1) 精度管理、2) 標準的検査法、3) 研修システムの3点を柱とし、レジオネラ属菌検査精度管理ワーキンググループ（以下WG）内で検討を行ってきた。平成25年度から微生物定量試験用標準菌株の販売を行っているシスメックス・ピオメリュウ社のBioBall（特注品）を利用することにより、配付試料にメーカー保証が得られ、また、メーカーによる商品が発送されることから、多施設へ安定した輸送が可能となった。平成26年度は、全国41の地方衛生研究所を対象として、WG推奨法を指定して実施した<sup>19)</sup>。非濃縮試料及び、未処理による検査工程を加えたことにより全体として菌の検出数の良好目標範囲に入る割合が増加した。

一方で、供試菌は、酸処理や熱処理、さらには選択分離培地により発育が抑制される場合があった。今後の外部精度管理においては、検査工程のどの部分に重きを置くかの定義付けを適切に行い、実検体検査に対する注意点等については研修会で対応することを想定している。

## 8. 分子疫学

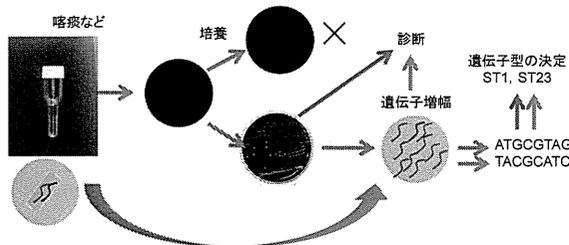
*L. pneumophila* の生息環境により、菌の遺伝子型に違いがあることが明らかになってきた<sup>17)</sup>。7つの遺伝子の一部領域をPCRで増幅し、遺伝子配列を決定し型別する。MLST (multilocus sequence typing) 法と同一の手法だが、病原性に関係する遺伝子も用いているため、SBT (sequence-based typing) 法と称している。The European Working Group for Legionella Infectionsにより検査法が設定されている ([http://www.hpa-bioinformatics.org.uk/legionella/legionella\\_sbt/php/sbt\\_homepage.php](http://www.hpa-bioinformatics.org.uk/legionella/legionella_sbt/php/sbt_homepage.php))。たとえば、(*flaA*, *pilE*, *asd*, *mip*, *mompS*, *proA*, *neuA*) が(2,3,9,10,2,1,6)の場合、ST23と名称がつけられている。

この手法を用いると、これまでパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) の泳動パターンで菌株が比較されてきたところ、数字で分類できるようになり、世界中の施設で型別された菌株が容易に比較できるようになった。

我々は、SBTにより、血清群1の国内分離株を遺伝子型でグループ分けすると、浴槽水分離株が多く含まれるB1, B2, B3, 冷却塔水分離株が多く含まれるC1, C2, 土壌・水溜まり分離株が多く含まれるS1, S2, S3, 感染源不明の臨床分離株が多いUグループの大きく9つに分かれることを見出した。これらのグループは感染源の推定に利用できる。冷却塔水分離株は、浴槽水分離株や土壌分離株とは異なり、STが比較的均一であった<sup>17)</sup>。臨床分離株のminimum spanning treeについての最新情報はレジオネラ・レファレンスセンター報告として、衛生微生物技術協議会の毎年の年次大会で報告されている。平成26年度は*L. pneumophila*の臨床分離株308株が151のSTに分かれたこと、多く分離されたST、集団感染との関係、日本固有のST、296株の*L. pneumophila* SGIのSTの関係と分離数を示すminimum spanning treeが記載されている ([http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/H26\\_Legionnaires.pdf](http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/H26_Legionnaires.pdf))。現在では、水溜まり<sup>19)</sup>、シャワー水由来の菌のSTも調査されている<sup>2)</sup>。一方、修景水、給水/給湯水、加湿器由来株のSTは今後の調査が待たれる。

感染源の調査には、これまで環境由来と患者由来の菌株を培養法によって分離し、パルスフィールドゲル電気泳動で比較する必要があった。しかし、現在では

STの多様性が明らかとなり、菌株識別率がパルスフィールドゲル電気泳動と同程度であることから、菌株を分離しないで直接感染源を推定する方法が、実施されるようになった(図5)。菌株が得られない場合や、迅速な集団感染の予測のために有用である。



(レジオネラ肺炎の診断と疫学におけるレジオネラ・ニューモフィラの遺伝子増幅と遺伝子型の決定)

図5 菌を分離しなくてもできる新しい感染源の調査法

## 9. 防止対策

遊離塩素消毒を行っているにも関わらず浴槽からレジオネラ属菌が検出されることがあり、遊離塩素消毒が全ての浴槽の安全を担保するとは言い難い。その原因として、井水や温泉水など多様な水質の存在、高pHの条件下では遊離塩素消毒の効果が期待できないこと、アンモニアを含む温泉水に遊離塩素を添加した場合に遊離塩素濃度は速やかに低下する、等が考えられる。そこで、研究班では、米国の水道で実用化されているモノクロラミン(結合塩素の一種)消毒に着目し、モノクロラミン消毒の入浴施設への応用について検討を行なった。施設における実施例を含めたモノクロラミン消毒の有用性については総説にまとめられているので参照されたい<sup>20)</sup>。

レジオネラ症対策のまとめを図6に示した。「つけない、増やさない、吸い込ませない」という基本が重

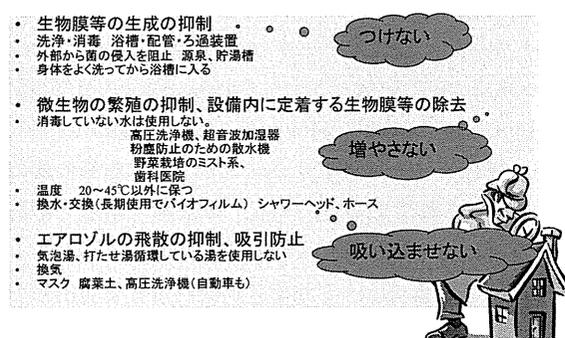


図6 レジオネラ症防止対策の基本 まとめ

要である。増やさないという点については、改正された「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」で、モノクロラミン消毒が公知のこととなったことは特筆される<sup>4)</sup>。今後、全国でモノクロラミン消毒を取り入れた条例に改定されていくものと思われる。さらに、「レジオネラ症対策のてびき」<sup>21)</sup>は、環境衛生監視員や旅館業・公衆浴場業等の衛生管理担当者双方にとって入浴施設の日常の衛生管理や、保健所の開催する衛生管理講習会の資料として有用である。また、レジオネラ症防止指針も基本的な文献である<sup>22)</sup>。

## 10. 謝辞

この総説で紹介した研究の多くは、厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業の「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究」[H25-健危-一般-009]及び「公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」[H22-健危-一般-014]と健康安全・危機管理対策総合研究事業の「迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究」[H19-健危-一般-014])で実施した。

## 【参考文献】

- 1) 国立感染症研究所, 他: <特集>レジオネラ症 2008.1 ~ 2012.12. 病原微生物検出情報 34, 155-157 (2013)
- 2) 磯部順子, 金谷潤一: 富山県の不明感染源解明のための環境調査. 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業, レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究((研究代表者 倉文明)平成26年度総括・分担研究報告書. p.123-132 平成27年.
- 3) 森本 洋: 分離集落の特徴を利用したレジオネラ属菌分別法の有用性. 日本環境感染学会誌 25, 8-14 (2010)
- 4) 健衛発 0331 第7号 平成27年3月31日 厚生労働省健康局生活衛生課長通知, 「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」の改正について

<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou->

- 10900000-Kenkoukyoku/0000080062.pdf
- 5) Chang B, Sugiyama K, Taguri T, et al. Specific detection of viable *Legionella* cells by combined use of photoactivated ethidium monoazide and PCR/real-time PCR. *Appl Environ Microbiol.* 75,147-153 (2009)
  - 6) Inoue H, Takama T, Yoshizaki M, et al.: Detection of *legionella* species in environmental water by the quantitative PCR method in combination with ethidiummonoazide treatment. *Biocontrol Sci.* 20, 71-74 (2015)
  - 7) 磯部 順子, 飯高 順子, 金谷 潤一ら: Liquid Culture EMA qPCR によるレジオネラ生菌迅速検査法の改良と評価. 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業, レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究 ((研究代表者 倉文明) 平成 26 年度総括・分担研究報告書. p.63-72 平成 27 年.
  - 8) 倉 文明: レジオネラ症. 小児疾患診療のための病態生理 1 改訂第 5 版 小児内科 46 増刊号 907-911, 2014 東京医学社
  - 9) 倉 文明: 今ふえているレジオネラ症 - その正体と予防対策 -. 食と健康, 48, 54-63 (2004)
  - 10) 倉 文明: 浴場や環境中からのレジオネラ感染. 公衆衛生, 75, 460-464 (2011)
  - 11) 砂川富正, 齊藤剛仁, 木下一美ら: 東日本大震災に関連して感染症発生動向調査に報告されたレジオネラ症. 病原微生物検出情報 34, 160-161 (2013)
  - 12) 健発第 0214004 号 平成 15 年 2 月 14 日厚生労働省健康局長通知, 「公衆浴場における衛生等管理要領等の改正について」  
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/legionella/030214-1.html>
  - 13) 倉 文明, 前川純子: レジオネラ症 - 最近の多様な感染源. 病原微生物検出情報 34, 169-170 (2013)
  - 14) Wei SH, Chou P, Tseng LR, et al.: Nosocomial neonatal legionellosis associated with water in infant formula, Taiwan. *Emerg Infect Dis.* 20, 1921-1924 (2014)
  - 15) Fritschel E, Sanyal K, Threadgill H, et al.: Fatal legionellosis after water birth, Texas, USA, 2014. *Emerg Infect Dis.* 2015 Jan; 21 (1) : 130-132.
  - 16) Shivaji T, Sousa Pinto C, San-Bento A, et al.: A large community outbreak of Legionnaires disease in Vila Franca de Xira, Portugal, October to November 2014. *Euro Surveill.* 19, 20991 (2014)
  - 17) Amemura-Maekawa J, Kikukawa K, Helbig JH, et al.: Distribution of monoclonal antibody subgroups and sequence-based types among *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates derived from cooling tower water, bathwater, and soil in Japan. *Appl Environ Microbiol.* 78, 4263-4270 (2012)
  - 18) 森本 洋, 磯部順子, 緒方喜久代ら: レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み. 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業, レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究 (研究代表者 倉文明) 平成 26 年度総括・分担研究報告書. p.77-101 平成 27 年.
  - 19) Kanatani J, Isobe J, Kimata K, et al.: Close genetic relationship between *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates from sputum specimens and puddles on roads, as determined by sequence-based typing. *Appl Environ Microbiol.* 79, 3959-3966 (2013)
  - 20) 杉山寛治: モノクロラミン消毒による浴槽水の衛生対策. ビルと環境 No.148, 34-41 (2015)
  - 21) 中臣昌広著, 倉 文明監修: ブックレット レジオネラ症対策のてびき, 2013, 一般財団法人日本環境衛生センター
  - 22) レジオネラ症防止指針作成委員会, レジオネラ症防止指針第 3 版, 2009, 財団法人ビル管理教育センター

