

Vexillifera sp.はアメーバの中でもレジオネラ耐性的な性質を示し、野外環境において宿主とならないアメーバの存在の重要性を示唆した。

次年度は、菌ならびにアカントアメーバに対するレクチンや糖質の反応性を調べたが、ConA のアメーバ強凝集性以外に顕著な作用はみられなかった。標識したレクチンや糖質に対する反応性も極めて乏しかった。菌-アメーバ感染実験系では、ConA に感染促進作用が、一方レクチンWGA に感染阻害作用がある可能性が示された。糖質としては多糖類に阻害作用の可能性が示された。なお、アメーバ増殖培地である PYGC に強い感染阻害作用が認められた。

最終年度は、レクチンの WGA、RCA120 およびセルピオースに感染抑制効果が、一方 ConA とヘパリンには感染促進効果があることを定量的に明らかにし、受容体に関してはアメーバ側で N アセチルグルコサミン残基が重要な要素となっていること、他にグルコース残基の関与も示された。ヘパリンには培養中に経時低下するレジオネラ属菌の感染性回復の効果が認められた。低濃度かつ発育能低下状態のレジオネラ属菌を、感染促進効果のみられたヘパリンを用いてアメーバで培養することで菌数増幅できることを明らかにした。

D. 考 察

菌の遺伝子型グループ(亜種レベル)による宿主アメーバ適合性が異なることは、環境中のレジオネラ属菌の分布、生態の決定要因にアメーバ相が関与していることを示している。中でもアカントアメーバは最も重要な生物学的因子としての役割を果しているものと想像される。レジオネラ属菌に最も感受性が高く、アメーバ属として菌感染性が一定していると考えられたことから、本研究ではアカントアメーバを解析モデルに用いることにしたが、菌のアメーバへの接着は感染における必須プロセスで、ここに接着と取り込みのための受容体が介在すると考えた。受容体の実体に関しては、レクチン、糖質とも菌やアメーバとの結合部位

を特定することが難しく、その局在に関する情報は得られなかった。しかし、これを構成する糖鎖残基に関してはいくつか知見が得られた。受容体解析では阻害試験からその特性を探るのが一般的で、本研究でも阻害性レクチンおよび糖質が存在することが分かった。これらはレジオネラ属菌のアメーバ感染を阻害する物質として、殺アメーバ等の方策以外のレジオネラ制御に役立つものと思われる。一方、感染促進効果が ConA というレクチンならびにヘパリンという巨大糖鎖分子に見られたことは想定外であった。特に自然環境で何らかの糖質が感染促進に働くかどうかの点については検証を要すると思われるが、この特性が難培養性のレジオネラ属菌の検出に有用であることが本研究で示された。分離培養困難なフィールド試料からの菌分離法として、アメーバを増殖装置とした方法の可能性が期待される。

E. 結 論

糖鎖は分子構造上多様性があり、これがレジオネラ属菌のアメーバ感染特異性に大きくかわることが推測される。アカントアメーバを感染モデル実験に用いることで、レクチンや糖質を使った解析が感染受容体の研究に有用であることが分かった。アカントアメーバ以外のアメーバの菌感染の特性も、この手法で解析することが可能と考えられる。またこれらの物質が感染制御に役立つ可能性があり、その手法開発が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

表-1、遺伝型グループ(亜種レベル)分類に基づく *L.pneumonia* 菌株とアメーバ感染の関係

菌株	ソース	ST	血清型	グループ	Subssp.	AC1	AC2	NG1	NG2	NG3	NG4	NG5	NG6	NG7	VN1	VN2	VN3	VN4	VN5	VX1
Lp080-045	患者		SG1		pneumo.	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	+	+
1	患者	36	SG1		pneumo.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1052	冷却塔	1	OLDA	C1	pneumo.?	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+	±	-	+	+
1592	冷却塔	1	Oxford	C1	pneumo.?	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±	+	+	+	+
5	冷却塔		SG5	C2	fraseri	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
590	冷却塔	154	Oxford	C2	fraseri	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
595	冷却塔	150	Oxford	C2	fraseri	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
694	冷却塔	598	Oxford	C2	fraseri	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1269	冷却塔	607	Oxford	C2	fraseri	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2501	喀痰	595	SG1	C2	fraseri	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2514	喀痰	608	SG1	C2	fraseri	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
2709	冷却塔	986	SG1	C2	fraseri	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2907	浴槽	1290	SG1	C2	fraseri	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2343	土壌	741	Philadel.	S1?	fraseri	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2564	喀痰	701	SG1	S1?	fraseri	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2752	喀痰	1023	SG1	S1?	fraseri	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
150	シャワー		SG5		pascullei	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2781	給水系		SG5		pascullei	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E.coli (対照)						+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

AC: *Acanthamoeba* sp.

NG: *Naegleria* sp.

VN: *Vannella* sp.

VX: *Vexillifera* sp.

+: アメーバ増殖を示す (レジオネラ非感染性)

-: アメーバ死滅を示す (レジオネラ感染性)

±: 栄養体の増殖が認められるも、一部で菌の感染があり細胞内増殖による破壊が認められる。



図-1、*Acanthamoeba* のレクチン ConA 凝集反応
(ConA:10 μ g/ml)

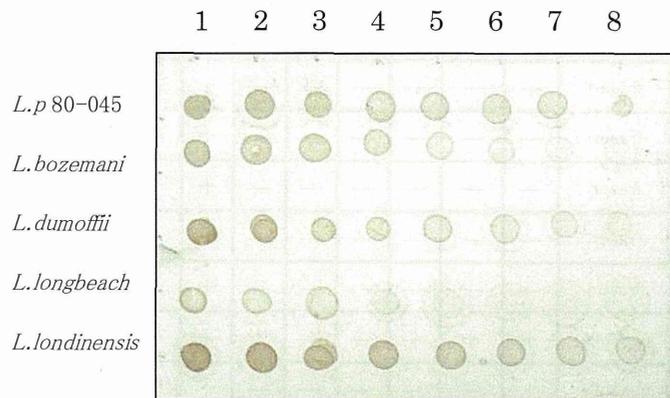


図-2、ドットプロット法によるレジオネラ属菌のレクチン WGA 結合性試験
(メンブレン上数字 1 は 250ng に相当、以下 2 倍希釈系列を示す)

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
中臣昌広		倉 文明 監修	レジオネラ症 対策のてびき 第2版	日本環境 衛生セン ター	神奈川	2015	109
中臣昌広		倉 文明 監修	レジオネラ症 対策のてびき	日本環境 衛生セン ター	神奈川	2013	109

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tomizawa Y, Hoshino Y, Sasaki F, Kurita N, Kawajiri S, Noda K, Hattori N, Amemura-Maekawa J, Kura F, Okuma Y	Diagnostic utility of splenic lesions in a case of Legionnaires' disease due to <i>Legionella pneumophila</i> serogroup 2.	Internal Medicine	54(23)	3079-3082	2015
Inoue H, Takama T, Yoshizaki M, Agata K	Detection of <i>Legionella</i> species in environmental water by the quantitative PCR method in combination with ethidium monoazide treatment.	Biocontrol Science	20(1)	71-74	2015
Inoue H, Fujimura R, Agata K, Ohta, H.	Molecular characterization of viable <i>Legionella</i> spp. in cooling tower water samples by combined use of ethidium monoazide and PCR.	Microbes and Environments	30(1)	108-112	2015
Nishizuka M, Suzuki H, Ara T, Watanabe M, Morita M, Sato C, Tsuchida F, Seto J, Amemura-Maekawa J, Kura F, Takeda H	A case of pneumonia caused by <i>Legionella pneumophila</i> serogroup 12 and treated successfully with imipenem.	Journal of Infection and Chemotherapy	20(6)	390-393	2014
Kanatani JI, Isobe J, Kimata K, Shima T, Shimizu M, Kura F, Sata T, and Watahiki M	Close genetic relationship between <i>Legionella pneumophila</i> serogroup 1 isolates from sputum specimens and puddles on roads by sequence-based typing.	Applied and Environmental Microbiology	9(13)	3959-3966	2013
Kanatani JI, Isobe J, Kimata K, Shima T, Shimizu M, Kura F, Sata T, and Watahiki M	Molecular epidemiology of <i>Legionella pneumophila</i> serogroup 1 isolates identify a prevalent sequence type, ST505, and a distinct clonal group of clinical isolates in Toyama prefecture, Japan.	Journal of Infection and Chemotherapy	19(4)	644-652	2013

吉崎美和	PCRによる選択的検出法を用いた迅速検出	防菌防黴	44(5)		印刷中
倉 文明	レジオネラ症の国内外の動向	ビルと環境	No. 149	36-44	2015
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
倉 文明	VI. 感染症 22 レジオネラ症	小児疾患診療のための病態生理	46増刊号	907-911	2014
井上浩章、高間朋子、石間智生、縣 邦雄	各種水利用設備のレジオネラ属菌検出実態	日本防菌防黴学会誌	41(12)	659-661	2013

IV. 研究成果の刊行物・別刷

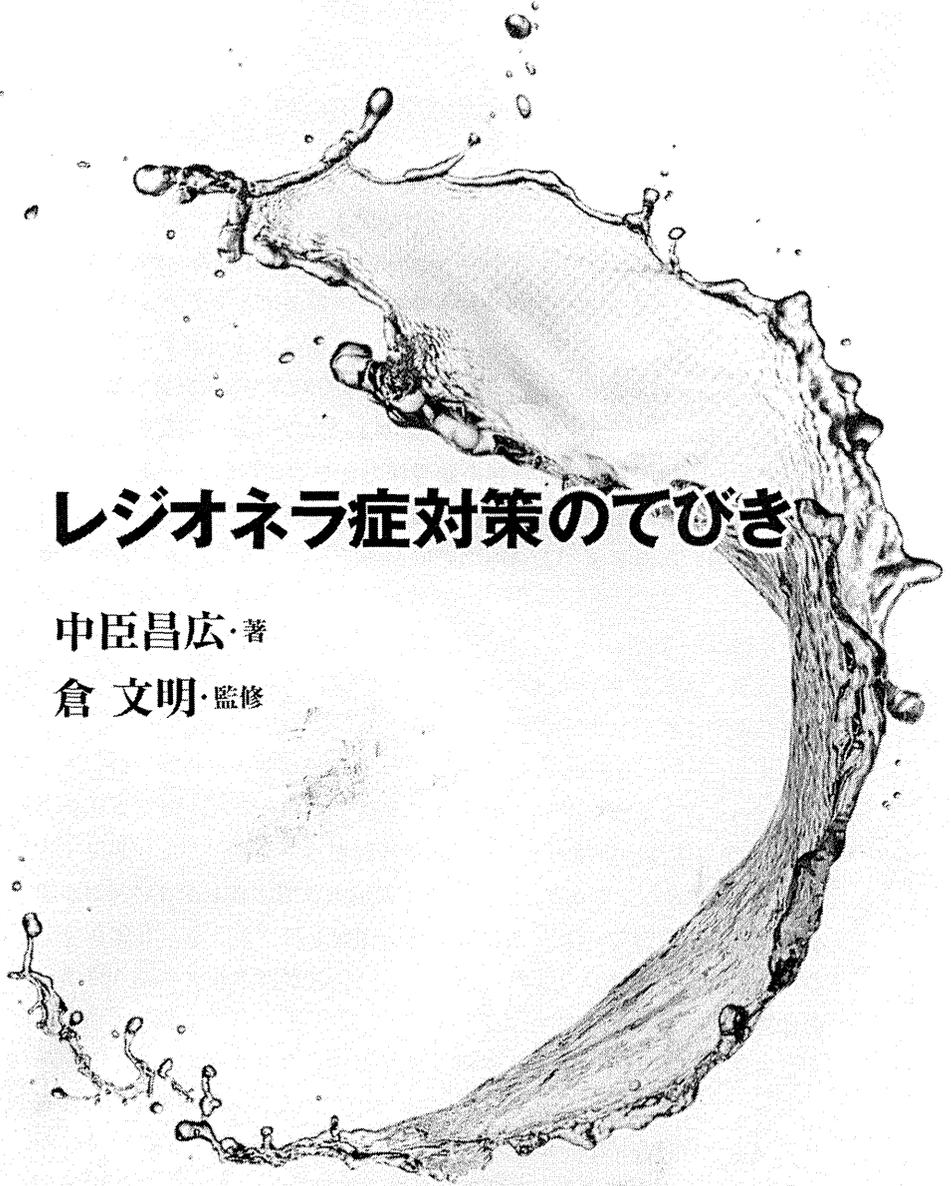
ISBN978-4-88893-141-0

C3047 ¥500E

定価 本体500円 + 税

 ブックレット

 ブックレット



レジオネラ症対策のてびき

中臣昌広・著

倉 文明・監修

一般財団法人 日本環境衛生センター

はじめに

「レジオネラ症」ということばをご存知でしょうか。感染する機会はどこにでもあり、また、お年寄りや乳幼児、病人など健康弱者と呼ばれる人にとって重篤な結果を招く恐れがある病気のひとつです。

そこで、効果的なレジオネラ症対策を分かりやすく、手にとってすぐ簡単に使いこなせるよう、工夫をしてみました。本書が目指すのは、読者の皆さんがレジオネラ症対策についてより深く理解していただけるようになることであり、そして、日々の衛生管理に役立てていただき、発生源対策を的確に行いレジオネラ症を未然に防止していただくことです。

たとえば、そう、皆さんが保健所の開催する衛生管理講習会に出席して、資料としてこのブックレットを渡されたものと思ってみてください。講師として、環境衛生監視員の私が皆さんの前に立っています。

「さあ、これから私といっしょに勉強していきましょう。レジオネラ症患者を出さないために、どんな衛生管理をすればいいのかをです。けっしてむずかしいことではありません。肩の力をぬいて、一つひとつ知識を身につけていきましょう」

本書の第1章ではレジオネラ症の知識について、第2章では衛生管理の方法について、そして第3章ではレジオネラ症発生や施設における菌検出などについての現場における具体的事例を掲載しました。興味があるところからページを開いていただいてもかまいません。

また、巻末には、もっと詳しく知りたいときに役立つ参考図書、文献、ホームページなどを案内しています。

レジオネラ症患者を出さない。利用者の命を守るためです。そして次に、一生懸命に働く現場の人たちの笑顔をいつも見ていたい。私は、その思いをつよくもって、この本を書くことにしました。

施設等で働く人たちのために、すこしでもわかりやすく、現場ですぐに役立つものにしたいと思いました。この本を皆さんがハンドブックとして活用し、レジオネラ症を防ぐことができれば、私にとって何よりの幸せです。

また、保健所の環境衛生監視員にとっても、この本が手引書になると思っ

ています。その方面でもお役に立てばうれしく思います。

本書が、施設の衛生管理を通じて、レジオネラ症発生防止に役立つことを切に願っています。

中臣 昌広

目次

はじめに

第1章 レジオネラ症の知識	1
1. レジオネラ症とその知識	
2. レジオネラ症感染源としての入浴施設	
3. レジオネラ症の診断と治療の流れ	
4. レジオネラ属菌の検査法	
5. レジオネラ症と法整備	
6. 意識をもつことが大切	
第2章 衛生管理の方法	28
1. リスク管理を知っておこう	
2. レジオネラ症発生対策3原則	
3. 施設の衛生管理	
3-1. 浴槽水・シャワー水の衛生管理	
3-2. シャワー、気泡発生装置、ジェット噴射装置、打たせ湯等を設けている場合	
3-3. 循環ろ過装置を設けている場合	
3-4. 貯湯槽を設けている場合	
4. その他の衛生管理	
4-1. 高濃度塩素の水でブラッシング	
4-2. 配管洗浄	
4-3. 原水の井戸に対する水質検査	
4-4. 原水槽の清掃	
5. 日常点検	
5-1. 管理計画の策定	
5-2. 作業内容の記録	
6. もしレジオネラ属菌が検出されたら	
7. もしレジオネラ症患者の発生が疑われたら	

第3章 具体的事例	46
<公衆浴場>	53
1. 感染源はこうしてわかる	
2. 薬湯の管理	
3. オーバーフロー水の扱い	
4. 肺炎患者の感染源を推測する	
5. 使用開始時のシャワー水	
6. 事故発生施設が生まれ変わる	
<旅館・ホテル>	74
7. 石の使用	
8. ホテル大浴場の水位計	
9. 旅館業施設の浴槽水から	
<スポーツ施設>	85
10. スポーツ施設の浴室で	
11. プールのジャグジー水槽から菌が	
<介護保険施設>	92
12. 木製風呂の注意点	
13. 介護保険施設の事例	
<その他>	100
14. 免疫の低下がリスクを高める	
エピソード	104
参考資料一覧	109

第1章 レジオネラ症の知識

この章では、レジオネラ症を理解するために欠かすことができない知識を紹介している。順番にこだわらずに読み進めていただいてもかまわない。一度読んだあと忘れてしまったら、何度でも読み返してみしてほしい。

1. レジオネラ症とその知識

レジオネラ症とは

レジオネラ症は、レジオネラ属菌を原因菌として起こる感染症だ。レジオネラ肺炎とポンティアック熱の二つをさす。

レジオネラ肺炎は、高熱、全身倦怠感、筋肉痛、吐き気、下痢、意識障害などがおもな症状である。症状が重くなれば死に至る可能性がある。潜伏期間は2～10日間である。

ポンティアック熱は、発熱、寒気、頭痛など、インフルエンザに似た症状がみられる。潜伏期間は1～2日間である。一般に軽症のままであり、数日経てば治ることが多い。

● レジオネラ症とは	
疫学的特徴	日本では循環式浴槽水からの感染が多く、冷却塔からの感染は少ない。 高齢者や入院患者など抵抗力の弱い人に発病しやすく、重症化する。 致死率：治療者 7%、無治療者 60～70%
病原体(細菌)	レジオネラ属菌 (50種類以上) 主な菌種：レジオネラ・ニューモフィラ
感染経路	空気感染・飛沫感染 人口水環境(循環式浴槽、冷却塔、給湯設備など)において水の中の菌がしぶき等のエアロゾルとともに飛散、それを吸入することにより感染。ヒトからヒトへの感染はないとされている。その他、汚染水の吸引・誤嚥。
症状	レジオネラ肺炎 一潜伏期間 2～10 日ー 全身倦怠感、筋肉痛、頭痛、高熱、悪寒、乾性咳 → 湿性咳、意識障害、腹痛、おう吐、下痢 ポンティアック熱 一潜伏期間 1～2 日ー 発熱、悪寒、頭痛などのインフルエンザ様症状
行政対応	四類感染症であり、感染症法第 12 条の規定によりただちに保健所への届出が必要。

(出典：『東京都感染症マニュアル 2009』(東京都福祉保健局健康安全部感染症対策課・編))

Diagnostic Utility of Splenic Lesions in a Case of Legionnaires' Disease due to *Legionella pneumophila* Serogroup 2

Yuji Tomizawa¹, Yasunobu Hoshino², Fuyuko Sasaki², Naohide Kurita², Sumihiro Kawajiri¹, Kazuyuki Noda¹, Nobutaka Hattori², Junko Amemura-Maekawa³, Fumiaki Kura³ and Yasuyuki Okuma¹

Abstract

We herein report the case of a 49-year-old man with clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenic lesion (MERS) associated with Legionnaires' disease due to *Legionella pneumophila* serogroup 2. Past reports suggest that Legionella infection is frequent in cases of MERS-associated pneumonia. Obtaining an early diagnosis of legionella infection is a challenge, especially if a *Legionella pneumophila* serogroup other than serogroup 1 contains the causative agent. In this case, the splenic lesion played an important role in recognizing the legionella infection. We suggest that legionella infection should be considered as a differential diagnosis in cases of splenic lesions associated with pneumonia.

Key words: Legionella, *Legionella pneumophila* serogroup 2, clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenic lesion, MERS, Legionnaires' disease

(Intern Med 54: 3079-3082, 2015)

(DOI: 10.2169/internalmedicine.54.4872)

Introduction

Recently, MRI has revealed that transient splenic lesions may be associated with a group of conditions clinically called mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenic lesion (MERS) (1). We previously reported a case of MERS associated with aseptic meningitis (2). Legionella infection mainly induces pneumonia and sometimes presents with central nervous system manifestations (3, 4). *Legionella pneumophila* comprises over 15 serogroups; infectious disorders caused by serogroup 2 are very rare. We herein report a case of MERS associated with *Legionella pneumophila* serogroup 2 infection and discuss the importance of detecting splenic lesions for acquiring an early diagnosis.

Case Report

A 49-year-old man was admitted to Juntendo University Shizuoka Hospital because of a fever and gait difficulty. He had no remarkable past medical or family history. Although he did not have access to the circulating water system, he had a habit of drinking shower water while showering. His body temperature was 39.9°C and his heart rate was 120 bpm. Chest auscultation revealed decreased breath sounds in the left lung. A neurological examination demonstrated a normal mental status with a wide-based gait, fine postural tremors and mildly exaggerated deep tendon reflexes. There were no sensory disturbances or pathological reflexes.

A blood examination showed an elevated white blood cell count (9,900 cells/ μ L, 89% of which were segmented leukocytes) and levels of aspartate aminotransferase (281 IU/L), alanine aminotransferase (238 IU/L), creatine phosphokinase

¹Department of Neurology, Juntendo University Shizuoka Hospital, Japan, ²Department of Neurology, Juntendo University, School of Medicine, Japan and ³Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases, Japan

Received for publication January 3, 2015; Accepted for publication March 25, 2015

Correspondence to Dr. Yuji Tomizawa, zawa@juntendo.ac.jp and tmzw1977@gmail.com

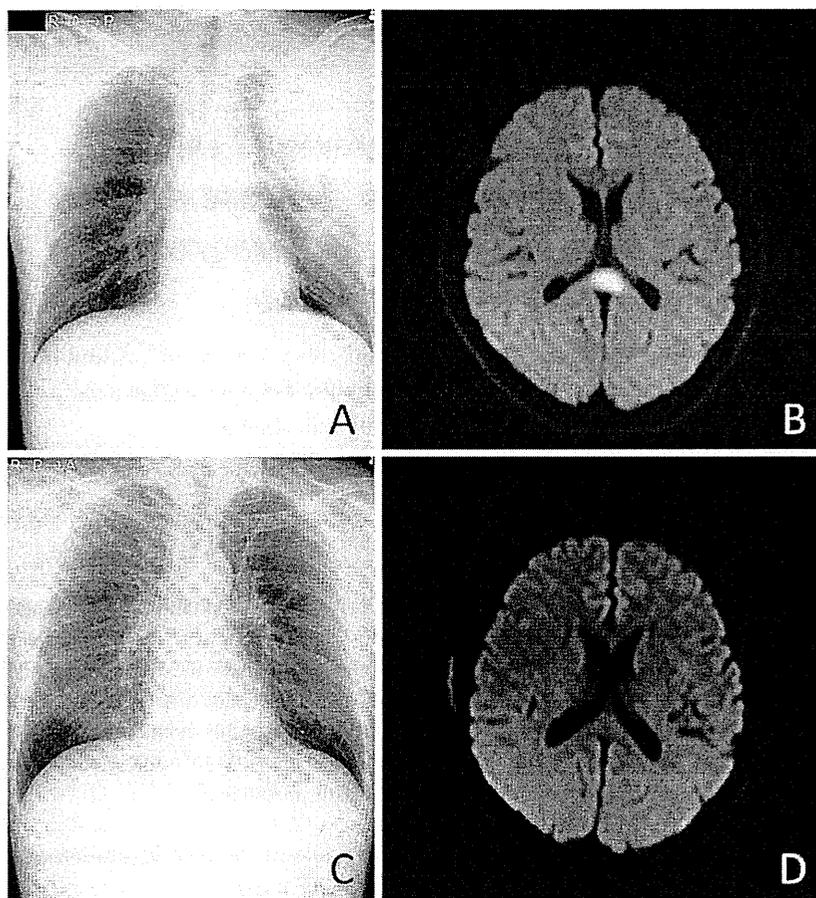


Figure. A. A chest X-ray obtained on admission showed left lobar pneumonia. B. Brain MRI diffusion-weighted image obtained on admission revealed a high-intensity lesion in the middle of the splenium. C. A chest X-ray obtained three weeks after admission showed an improvement in the pneumonia. D. A brain MRI diffusion-weighted image obtained three weeks after admission showed the disappearance of the splenic lesion.

(1,793 IU/L), creatinine (1.31 mg/dL) and C-reactive protein (22.9 mg/dL). The sodium level was slightly reduced (130 mmol/L).

A cerebrospinal fluid (CSF) examination showed a normal white blood cell count (3 cells/ μ L), normal total protein level (22 mg/dL) and normal IgG index (0.60). There were no oligoclonal IgG bands, and the myelin basic protein level was not elevated, whereas the CSF IL-6 was elevated at 61 pg/mL.

A chest X-ray showed left lobar pneumonia (Figure A), while a brain MRI scan disclosed a splenic lesion (Figure B).

A sputum smear and culture revealed only normal flora of the pharynx. A rapid urinary antigen test for legionella (Alere BinaxNOW[®] Legionella Urinary Antigen Card, Alere, Waltham, USA) was negative, as was an anti-*Mycoplasma pneumoniae* antibody test (particle agglutination).

A diagnosis of community-acquired bacterial pneumonia and MERS associated with pneumonia was made and the administration of sulbactam/ampicillin (6 g/day) was started.

Despite this treatment, the X-ray findings of pneumonia progressed. Therefore, a diagnosis of atypical pneumonia, including legionella infection, was assumed, and the antibiotic was changed to pazufloxacin mesilate (2 g/day). After the administration of pazufloxacin, remarkable radiological and clinical improvements were observed (Figure C). Moreover, the gait disturbance improved completely within a few days, along with an improvement in the pneumonia without specific treatment, and the splenic lesion on MRI disappeared (Figure D).

In order to obtain a further diagnostic evaluation, temporal serum antibody titer measurements in relation to legionella were performed using the microplate agglutination test kit (Denka Seiken, Tokyo, Japan) and in-house heat-killed *Legionella pneumophila* antigens (serogroups 7-15) (5, 6). Titers of each antibody for *L. pneumophila* serogroup 1-15, *Legionella bozemanii*, *Legionella dumoffii*, *Legionella gormanii* and *Legionella micdadei* were <1:16 in the first week. During the second week, the serum titer against *L. pneumophila* serogroup 2 was found to be ele-

vated at 1:32, while that against serogroup 12 was 1:16. In the third and fourth weeks, the titer against *L. pneumophila* serogroup 2 became elevated at 1:64; however, that against serogroup 12 remained at 1:16. Detection of the *Legionella* 16S rRNA gene in the acute-phase serum (in the first week) was negative according to a Cycleave PCR *Legionella* (16S rRNA) detection kit (CY240, Takara Bio, Kusatsu, Japan). Although a four-fold rise to ≥ 128 in the titer between the acute and convalescent stages is generally required for a definitive serologic diagnosis (7), the clinical picture was consistent with that of Legionnaires' disease, and the four-fold titer increase was reasonable for a diagnosis (8, 9). Therefore, we finally diagnosed the patient as having Legionnaires' disease due to *L. pneumophila* serogroup 2 infection associated with MERS.

Discussion

Although there are some case reports of MERS associated with *Legionella pneumophila* infection (10-16), no reports of MERS associated with *Legionella pneumophila* serogroup 2 infection have been published to date.

In the present case, the detection of the splenic lesion was one of the most important clues suggesting legionella infection. A urinary antigen test for legionella was negative, as this test detects only *Legionella pneumophila* serogroup 1. There are various reports of MERS associated with pneumonia (10-18); eight of 10 of these patients showed legionella infection, while the others had *Mycoplasma pneumoniae* and/or *Staphylococcus aureus* infection. Given the frequency of legionella infection in pneumonia patients with splenic lesions, the presence of a splenic lesion is thought to have considerable diagnostic value for confirming legionella infection.

The pathophysiology of the splenic lesion in this case was unclear. Intramyelinic edema and inflammatory filtration have been suggested to be mechanisms underlying the formation of splenic lesions (1, 10). The unique anatomical features of the spleen, such as the axonal distribution (19), are believed to underlie the pathophysiology, although histopathological studies are lacking due to the benign prognosis of MERS.

In the present case, the IL-6 level in the CSF was markedly elevated. However, the IL-6 level in the serum was not measured, and we therefore cannot determine whether the IL-6 elevation was caused by influx through the blood-brain barrier or intrathecal production. CSF IL-6 elevation has been reported in previous cases of MERS associated with infection (20-23), and Morichi et al. demonstrated that IL-10 and IFN-gamma elevation in the CSF is more specific for influenza-associated MERS (21). In view of these reports, cytokine elevation after infection is a possible mechanism of MERS development.

It is unlikely that a corpus callosum disturbance mainly causes gait disturbances without inducing prominent symptoms of callosal disconnection. The characteristics of the

gait disturbance noted in the present case included a wide-based gait without a sensory disturbance, thought to be due to a cerebellar disturbance. Cerebellar involvement in cases of legionella infection has been previously reported (3, 4, 24). Interestingly, three of seven cases of MERS associated with legionella were reported to involve cerebellar dysfunction, and Imai et al. demonstrated cerebellar hypoperfusion in a case of MERS associated with legionella infection on SPECT (11).

In conclusion, Legionnaires' disease is a potentially fatal condition, and obtaining an early diagnosis is a challenge, especially if a *Legionella pneumophila* serogroup other than serogroup 1 comprises the causative agent. We herein demonstrated that legionella infection should be considered in cases of pneumonia associated with splenic lesions.

The authors state that they have no Conflict of Interest (COI).

References

1. Tada H, Takanashi J, Barkovich AJ, et al. Clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenic lesion. *Neurology* 63: 1854-1858, 2004.
2. Tani M, Natori S, Noda K, et al. Isolated reversible splenic lesion in adult meningitis: a case report and review of the literature. *Intern Med* 46: 1597-1600, 2007.
3. Weir AI, Bone I, Kennedy DH. Neurological involvement in legionellosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 45: 603-608, 1982.
4. Johnson JD, Raff MJ, Van Arsdall JA. Neurologic manifestations of Legionnaires' disease. *Medicine (Baltimore)* 63: 303-310, 1984.
5. Tateda K, Murakami H, Ishii Y, Furuya N, Matsumoto T, Yamaguchi K. Evaluation of clinical usefulness of the microplate agglutination test for serological diagnosis of legionella pneumonia. *J Med Microbiol* 47: 325-328, 1998.
6. Nishizuka M, Suzuki H, Ara T, et al. A case of pneumonia caused by *Legionella pneumophila* serogroup 12 and treated successfully with imipenem. *J Infect Chemother* 20: 390-393, 2014.
7. Yabuuchi E, Saito A, Niki Y, et al. Determination of cutoff value of serum anti-*Legionella* antibody titer: Microplate Agglutination Test (MPAT). *Kansenshogaku Zasshi (The Journal of the Japanese Association for Infectious Disease)* 71: 116-124, 1997 (in Japanese, Abstract in English).
8. Maekawa J, Kura F. Diagnostic laboratory tests for legionellosis. *Byogen Biseibutsu Kensyutsu Jouhou (Infections Agents Surveillance Report)* 24: 29, 2003 (in Japanese).
9. Yoshioka H, Takayanagi N, Ishiguro T, et al. Investigation of diagnostic method in 74 *Legionella* pneumonia cases. *Nihon Rinsho Biseibutsugaku Zasshi (The Journal of Japanese Society for Clinical Microbiology)* 22: 28-34, 2012 (in Japanese, Abstract in English).
10. Morgan JC, Cavaliere R, Juel VC. Reversible corpus callosum lesion in legionnaires' disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75: 651-654, 2004.
11. Imai N, Yagi N, Konishi T, Serizawa M, Kobari M. Legionnaires' disease with hypoperfusion in the cerebellum and frontal lobe on single photon emission computed tomography. *Intern Med* 47: 1263-1266, 2008.
12. Kasai D, Ogasawara T, Tomita Y, et al. A case of Legionnaires' disease with abnormal neurological findings showing the corpus callosum abnormality on brain MRI. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi* 47: 717-722, 2009 (in Japanese, Abstract in English).
13. Hibino M, Hibi M, Akazawa K, Hikino K, Oe M. A case of Le-

- gionnaires' pneumonia accompanied by clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenial lesion (MERS) with transient altered mental status and cerebellar symptoms, which responded to treatment by antibiotics and corticosteroid. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi* 49: 651-657, 2011 (in Japanese, Abstract in English).
14. Kilic EC, Aksoy S, Sahin AR, Uzun N, Gokyigit M. The presentation of a transient hyperintense lesion with Legionnaires disease in a patient: is it a coincidence or an incidental finding? *Idegogyo Sz* 66: 63-66, 2013.
 15. Ohyama K, Kawabata K, Araki A, et al. Reversible splenial lesion associated with infectious disorders: report of seven cases. *Shinkei Chiryu-gaku (Neurological Therapeutics)* 30: 180-184, 2013 (in Japanese, Abstract in English).
 16. Tsunemi Y, Yoritaka A, Hiramatsu M, et al. Two cases of MERS associated with Legionnaires' disease. *Rinsho Hoshasen (Japanese Journal of Clinical Radiology)* 59: 202-209, 2014 (in Japanese).
 17. Hong JM, Joo IS. A case of isolated and transient splenial lesion of the corpus callosum associated with disseminated *Staphylococcus aureus* infection. *J Neurol Sci* 250: 156-158, 2006.
 18. Shibuya H, Osamura K, Hara K, Hisada T. Clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenial lesion due to *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Intern Med* 51: 1647-1648, 2012.
 19. Aboitiz F, Scheibel AB, Fisher RS, Zaidel E. Fiber composition of the human corpus callosum. *Brain Res* 598: 143-153, 1992.
 20. Shiihara T, Kato M, Hayasaka K. Clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenial lesion. *Neurology* 64: 1487, 2005.
 21. Morichi S, Kawashima H, Ioi H, Yamanaka G, Kashiwagi Y, Hoshika A. High production of interleukin-10 and interferon- γ in influenza-associated MERS in the early phase. *Pediatr Int* 54: 536-538, 2012.
 22. Miyata R, Tanuma N, Hayashi M, et al. Oxidative stress in patients with clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenial lesion (MERS). *Brain Dev* 34: 124-127, 2012.
 23. Kometani H, Kawatani M, Ohta G, et al. Marked elevation of interleukin-6 in mild encephalopathy with a reversible splenial lesion (MERS) associated with acute focal bacterial nephritis caused by *Enterococcus faecalis*. *Brain Dev* 36: 551-553, 2014.
 24. Shelburne SA, Kielhofner MA, Tiwari PS. Cerebellar involvement in legionellosis. *South Med J* 97: 61-64, 2004.

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¹⁾。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

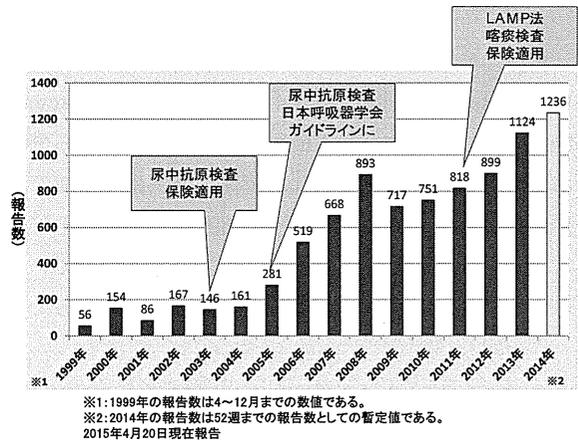


図1 レジオネラ症の年別報告状況 (感染症発生動向調査)

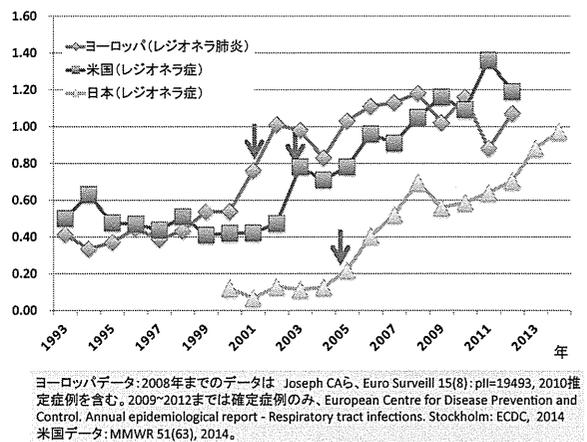


図2 人口10万人当り罹患率の年別推移の国際比較

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。

各種環境水等にと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²⁾。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. feeleeii</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. jordani</i>	<i>L. steelei</i>	<i>L. fairfieldensis</i>	<i>L. steigerwaltii</i>
<i>L. sainthelensis</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				
ウォッシュャー液	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を観察し, 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³⁾。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⁴⁾。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日ま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

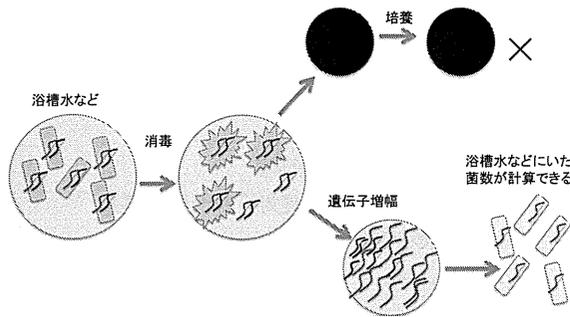


図3 定量的遺伝子迅速検査による消毒後の菌数測定

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^{5,6)}。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⁷⁾。

176検体内、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¹⁾。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¹⁾、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 *Legionella pneumoniae* 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: 藪内英子ら, *Legionella pneumophila* serogroup 7 による Pontiac fever の集団発症例 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 Legionella pneumonia 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¹¹⁾。

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」¹²⁾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¹³⁾、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¹⁴⁾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)¹⁴⁾。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