

レジオネラ症患者及び利用施設から レジオネラ属菌を検出した事例

笠愛・川崎恵・田上紗弥加・堤恵実・藤代敏行

福岡市保健環境研究所保健科学課

Detection of *Legionella* spp. in a Facility used by a Legionnaires' disease patient

Ai RYU, Megumi KAWASAKI, Sayaka TANOUE,
Megumi TSUTSUMI and Toshiyuki FUJISHIRO

Health Science Section, Fukuoka City Institute of Health and Environment

要約

令和 5 年（2023 年）4 月、福岡市内の医療機関からレジオネラ症発生届が提出された。当該患者及びその利用施設から採取された検体（延べ 26 検体）について検査を実施したところ、患者の気管洗浄液及び患者利用施設のシャワー水から *Legionella pneumophila* SG1 が分離された。それらの分離株の関連性を調べるためパルスフィールド・ゲル電気泳動法による分子疫学解析を実施したところ、PFGE 泳動像について、非常に高い類似度を示した。分離された菌株の分子疫学解析結果及び保健所が実施した疫学調査の結果から、患者利用施設のシャワー水が感染源であると管轄保健所が特定した。

Key Words : レジオネラ属菌 *Legionella* spp., レジオネラ・ニューモフィラ SG1 *Legionella pneumophila* SG1, リアルタイム PCR Real-Time PCR, パルスフィールド・ゲル電気泳動 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)

1 はじめに

レジオネラ症とは、レジオネラ属菌を病原体とする 4 類感染症であり、平成 25 年（2013 年）以降、国内において年間 1000~2500 件の届出が行われている¹⁾。レジオネラ属菌は、環境中に広く存在する菌ではあるが、免疫機能が低い人が感染すると、レジオネラ肺炎、ポンティアック熱等を引き起こす。

また、分子疫学解析は、食中毒、感染症等発生時に感染源の究明、感染拡大防止及び再発防止のために重要であり、レジオネラ属菌においては、パルスフィールド・ゲル電気泳動法（以下、「PFGE 法」とする。）が広く用いられている。本稿では、患者及び患者利用施設から *Legionella pneumophila*（以下、「*L. pneumophila*」とする。）SG1 が分離された事例について報告する。

2 概要

令和 5 年（2023 年）4 月 14 日、福岡市内の医療機関からレジオネラ症発生届が管轄保健所へ提出された。当該患者は、4 月 7 日に発症したが、発症日の 3 週間以上前から同施設に入院しており、当該施設での感染が疑われた。患者及び患者利用施設から *L. pneumophila* SG1 が分離されたため、分離株の分子疫学解析を実施したところ、類似度は 0.94 で、同一由来である可能性が高いと考えられた。

3 検査方法

3.1 供試検体

供試検体を表 1 に示す。

供試検体のうち検水は、施設に①～④の給湯系統が存在していたため、それぞれから採水したものである。なお、患者が使用していたのは、A 階に給湯される①系のみであった。なお、一部のシャワー水は、出し始めの時点と流量が安定した後の時点とそれぞれ採水した。

表 1 供試検体

	検体名	検体数
患者	気管洗浄液	1
施設	A階シャワーふきとり(①系統)	1
	A階シャワー水(①系統)	6
	A階蛇口水(①系統)	3
	B階シャワー水(②系統)	6
	C階シャワー水(③系統)	4
	D階シャワー水(③系統)	4
	E階厨房の水(④系統)	1
	小計	25
合計		26

3.2 検査手順

レジオネラ属菌の分離・同定試験について、検査手順を図 1 に示す。

3.2.1 検水濃縮

検水濃縮は、厚生労働省通知²⁾に準じ、検水 500 mL をポリカーボネート製で、直径 47 mm、孔径 0.20 μm のメンブランフィルターを用いてろ過し、200 倍濃縮液を調製した。

3.2.2 遺伝子検査

遺伝子検査は、既報³⁾に従って実施した。

3.2.3 培養法

遺伝子検査で陽性となった検体について、培養法を実施した。その方法は、厚生労働省通知²⁾及び病原体検出マニュアル⁴⁾に準じた。

3.2.4 鑑別・同定

斜光法及び L-システイン要求性試験により菌の鑑別を行った。また、リアルタイム PCR 法及びレジオネラ免疫血清「生研」（デンカ株式会社）を用いて血清群を判定し、同定を行った。

3.3 疫学解析

分離菌株について、PFGE 法による分子疫学解析を実施した。検査は、病原体検出マニュアル⁴⁾に従って実施し、得られた泳動像のバンドパターンを CLIQS V1.4 ソフトウェア（株式会社スクラム）を用いて解析し、Dice 法にて類似度を算出した。

4 結果及び考察

レジオネラ属菌の分離・同定試験の結果を表 2 に示す。本事例では、患者の気管洗浄液は、1 検体陽性、また、施設のシャワー水は、3 検体陽性（遺伝子検査 23 検体陽性）となった。患者の気管洗浄液及び施設のシャワー水から *L. pneumophila* SG1 が分離された。患者由来菌株 1 株及び患者利用施設由来菌株 2 株について、PFGE 法を行った。泳動像を図 2 に示す。患者由来菌株及び患者利用施設由来菌株のバンドパターンが 2 バンド違いであった。また、患者由来菌株及び患者利用施設由来菌株の類似度は 0.94 で、同一由来である可能性が高いと考えられた。

保健所が患者及び施設調査を行ったところ、患者が感染の可能性が考えられる期間より以前から施設に入院しており、外出はなく空気感染の可能性がないこと、施設の浴槽、加湿器等の利用がない及び土壌への接触がないことが判明し、福岡市保健環境研究所の患者及び患者利用施設由来菌株の分子疫学解析の結果から施設のシャワー水が感染源だと特定した。

患者利用施設由来の検体から培養検査でレジオネラ属菌陽性となったものは、①系統のシャワー水のみであったが、遺伝子検査では、大部分の検体で陽性となっており、過去に①系統以外の給湯系統にもレジオネラ属菌が存在していたことが考えられる。また、清掃によりレジオネラ属菌が死滅しても、しばらくの間は、遺伝子が残存しているため、清掃によるレジオネラ除去を本稿で使用した遺伝子検査³⁾で確認することは難しい。そのため、近年開発されている生菌のみを検出する遺伝子検査法⁵⁾により迅速な検査が行えるように検査法の見直し、改良を検討していきたい。

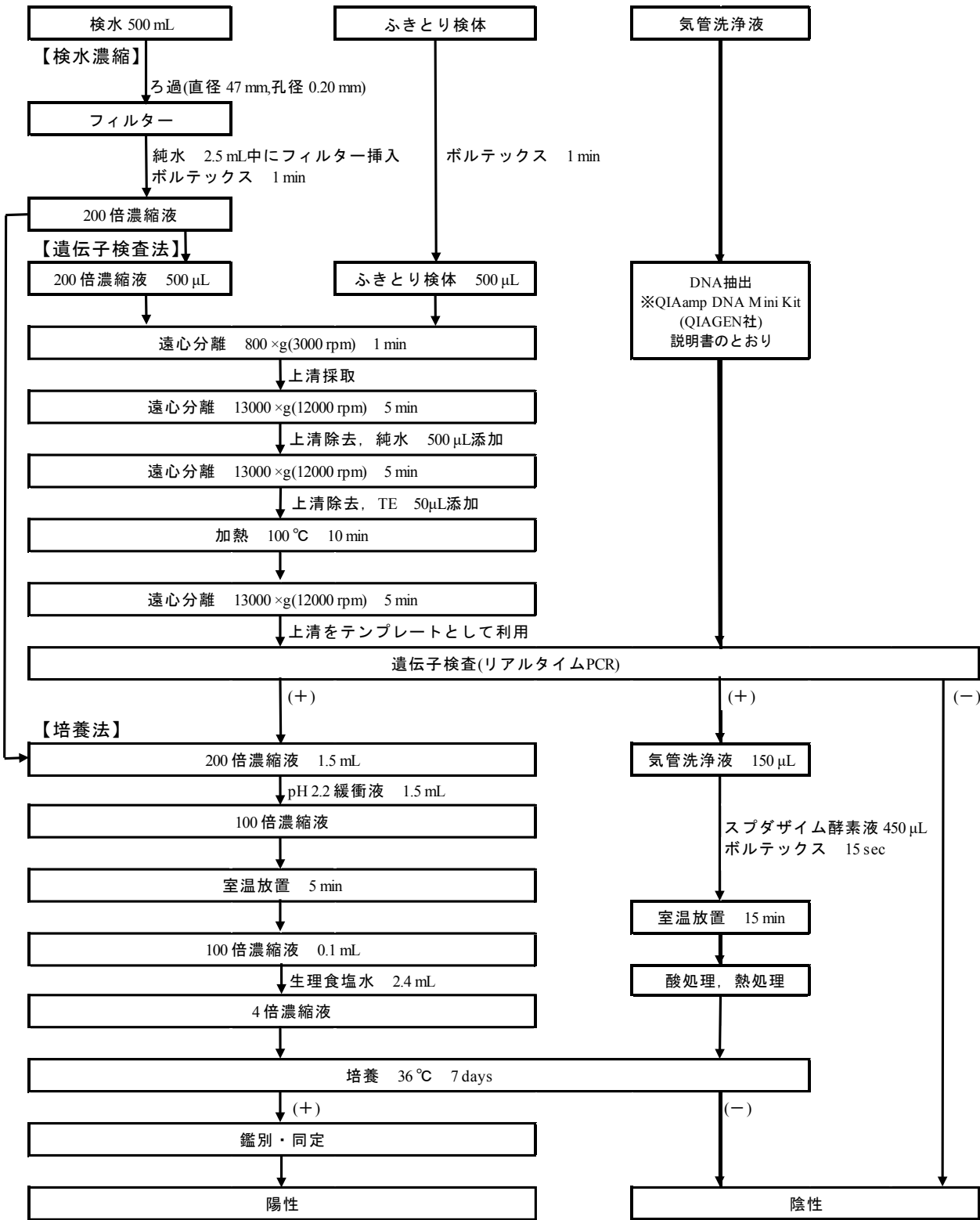


図1 分離・同定試験のフローチャート

表 2 レジオネラ属菌の分離・同定試験の結果

採水日		4月17日	4月19日	4月20日	4月21日	4月22日	4月23日
検体名	検査方法	PCR/培養	PCR/培養	PCR/培養	PCR/培養	PCR/培養	PCR/培養
患者	気管洗浄液	陽性/陽性※1	－/－	－/－	－/－	－/－	－/－
施設	A階シャワーふきとり(①系統)	陰性/－	－/－	－/－	－/－	－/－	－/－
	A階シャワー水(①系統) (出し始め)患者が利用	陽性/陽性※1	陽性/－	陽性/陽性	－※3/－※3	陽性/陰性	陽性/－
	A階シャワー水(①系) (安定後)患者が利用	陽性/陽性※1					
	A階蛇口水(①系統)	－/－	陽性/－	－※2/－※2	－※3/－※3	陽性/陰性	陽性/－
	B階シャワー水(②系統)	陽性/陰性	陽性/－	陽性/陰性	陽性/陰性	陽性/陰性	陽性/－
	C階シャワー水(③系統)	－/－	陽性/－	－※2/－※2	陽性/陰性	陽性/陰性	陽性/－
	D階シャワー水(③系統)	－/－	陽性/－	－※2/－※2	陽性/陰性	陽性/陰性	陽性/－
	E階厨房の水(④系統)	－/－	陰性/－	－/－	－/－	－/－	－/－

－:未実施

※1 PFGE 法実施

※2 貯湯槽清掃前のため、採水せず

※3 貯湯槽清掃中で採水不可

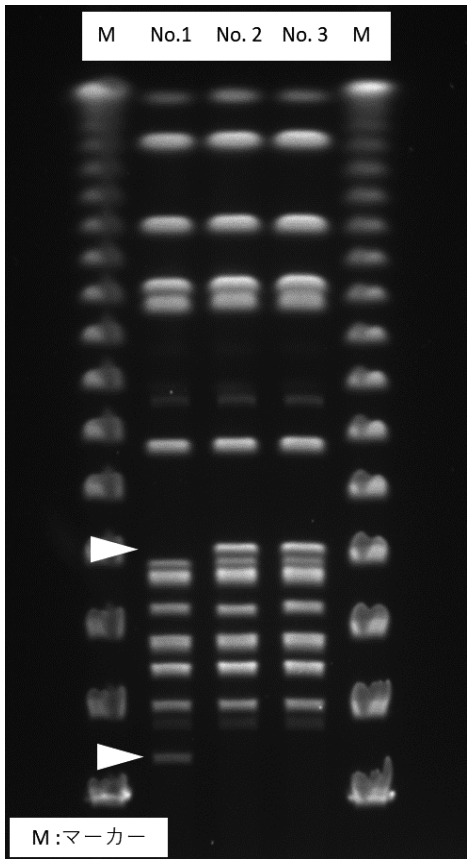


図 2 PFGE 泳動像

M:DNA マーカー

No.1:患者の気管洗浄液分離株

No.2:A 階シャワー (①系) 出し始め分離株

No.3:A 階シャワー (①系) 安定後分離株

文献

- 1) 国立感染症研究所：発生動向調査年別一覧「レジオネラ症」，
<<https://www.niid.go.jp/niid/ja/ydata/11529-report-ja2021-20.html>>（令和 6 年 9 月 13 日閲覧）
- 2) 厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課薬生衛発 0919 第 1 号：公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法について 別添公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法，令和元年（2019 年）9 月 19 日
- 3) 松永典久，他：リアルタイム PCR 法を用いた浴槽水等のレジオネラ属菌迅速検査法の開発，福岡市保健環境研究所報，43，52～58，2018
- 4) 国立感染症研究所:病原体検出マニュアル「レジオネラ症」令和 2 年（2020 年）9 月 1 日改訂，<<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Legionella20200904.pdf>>（令和 6 年 9 月 13 日閲覧）
- 5) 公益財団法人日本建築衛生管理教育センター：第 4 版 レジオネラ症防止指針，2017