

平成27年度生活衛生関係技術担当者研修会

レジオネラ症の最近の話題と動向

倉 文明

「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」研究班

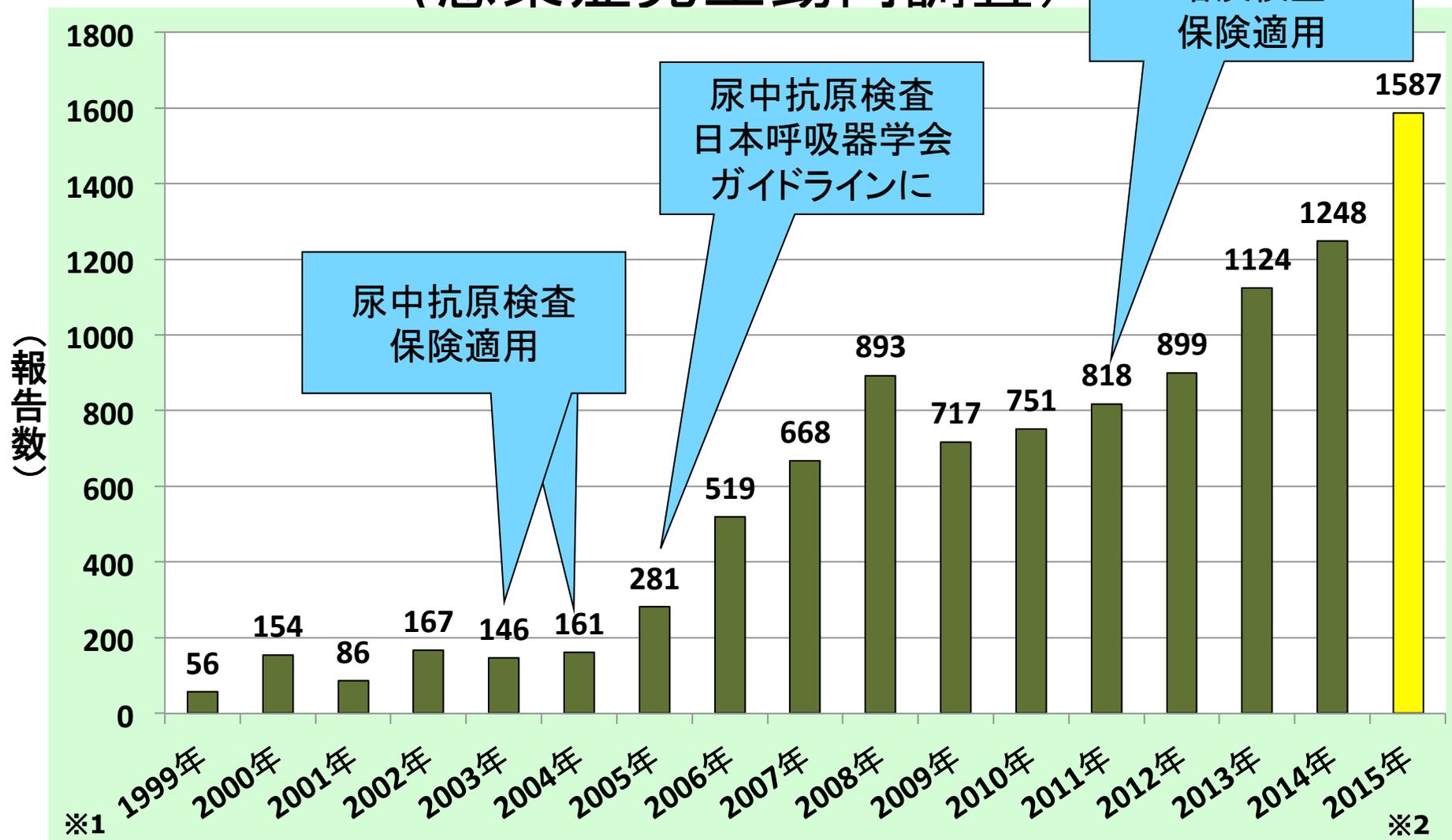
国立感染症研究所

ウイルス第二部(細菌第一部併任)

平成28年2月5日、厚生労働省低層棟2階講堂



年度別報告状況 (感染症発生動向調査)

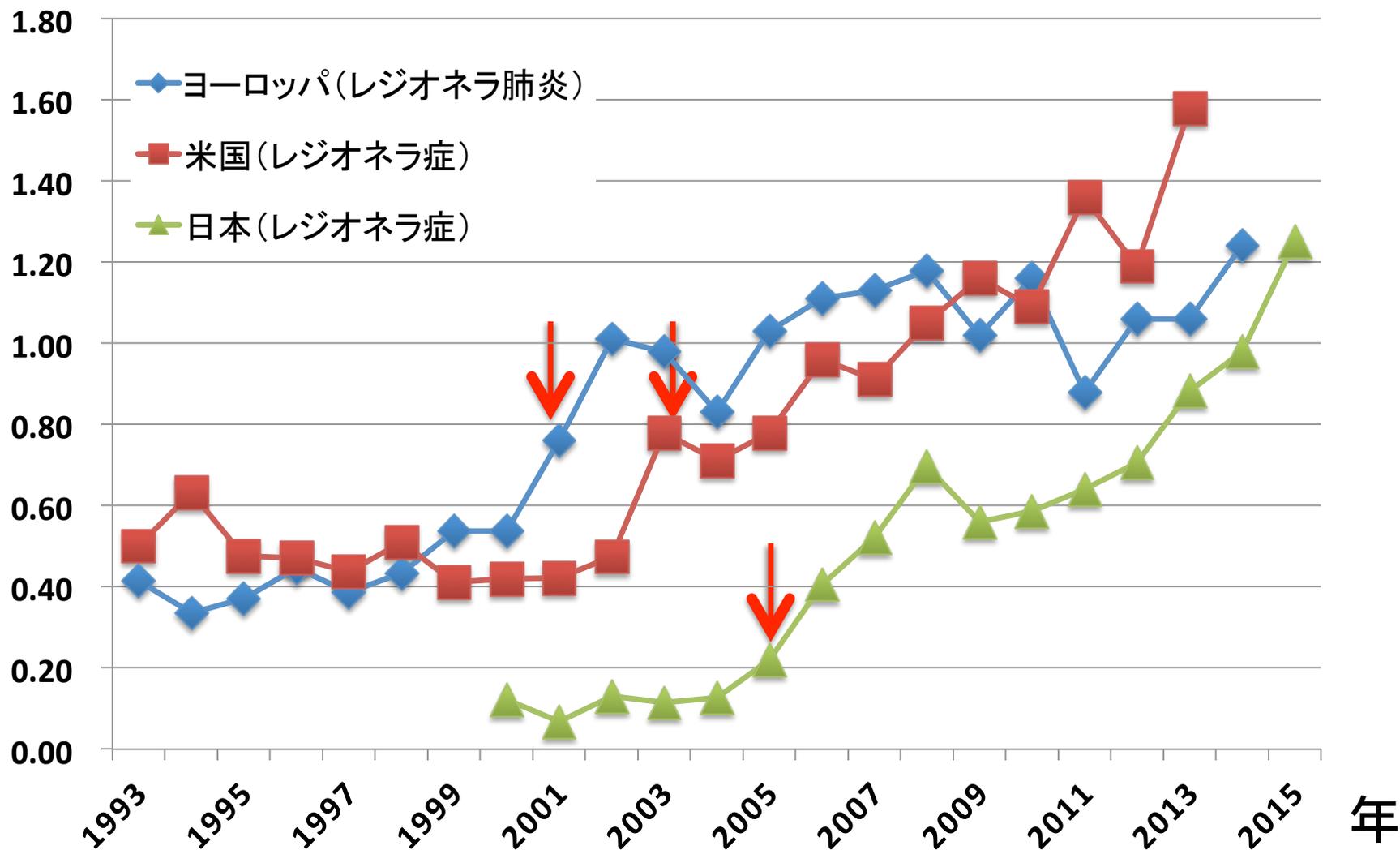


※1: 1999年の報告数は4~12月までの数値である。

※2: 2015年の報告数は各々52週・53週までの報告数としての暫定値である。

2016年2月19日現在報告

人口10万人当り罹患率の国際比較



ヨーロッパデータ: Joseph CAら、Euro Surveill 15(8):pII=19493, 2010 (2008年まで、推定症例を含む)、European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance Report, Legionnaires' disease in Europe 2014, 2016 (2009~2014)
 米国データ:MMWR 62(53), 2015

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	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、p1073

7: 古畑勝則ら、2002、防菌防黴、p555 アメーバ培養法

Legionella属菌58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. norrlandica</i>
<i>L. bozemanae</i> *a)	<i>L. quinlivanii</i> *b)	● <i>L. drancourtii</i>	<i>L. quateirensis</i>
<i>L. feeleii</i> *a)	<i>L. rubrilucens</i>	<i>L. dresdenensis</i>	<i>L. rowbothamii</i>
<i>L. gormanii</i>	<i>L. worsleiensis</i> *b)	<i>L. drozanskii</i>	<i>L. santicrucis</i>
<i>L. hackeliae</i>	<i>L. nagasakiensis</i>	<i>L. erythra</i>	<i>L. shakespearei</i>
<i>L. jordanis</i>	<i>L. steelei</i>	<i>L. fairfieldensis</i>	<i>L. spiritensis</i>
<i>L. sainthelensi</i>	<i>L. jamestowniensis</i>	<i>L. fallonii</i>	<i>L. steigerwaltii</i>
<i>L. maceachernii</i>	<i>L. londiniensis</i>	<i>L. geestiana</i>	<i>L. taurinensis</i>
<i>L. oakridgensis</i>	<i>L. cardiaca</i>	<i>L. gratiana</i>	<i>L. tunisiensis</i>
<i>L. wadsworthii</i>		<i>L. gresilensis</i>	<i>L. yabuuchiae</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) : 肺炎患者で菌は分離されなかったが抗体力価上昇

● 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。

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 (内死亡数)	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 (1)	<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
2015年2月	新潟	スポーツクラブの 入浴設備	2	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2015年5月	岩手	公衆浴場	13 (1)	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2015年5-6月	神奈川	公衆浴場	7	<i>L. pneumophila</i> 血清群1

海外のレジオネラ症大規模集団感染事例 最近

約50名以上の患者事例のみ

年	国名	施設	感染源	確定症例				
				患者数	数	死亡者数		
30	2005	ノルウェー	リグニン製造工場	空気洗浄のための冷却施設	55	10	LpSG1	
31	2006	スペイン	市センター	冷却塔	146	0	LpSG1	
32	2006	英国	レジャー施設	渦流浴(循環式)	118	5	0	LpSG1
33	2007	ロシア	町の給水設備	給水設備	130	74	5	LpSG1
34	2009-2010	ドイツ	醸造排水処理プラント	冷却塔		65	5	LpSG1
35	2012	英国	蒸溜所?	冷却塔?	101	53	3	LpSG1
36	2012	カナダ	事務所用ビル	冷却塔		182	13	LpSG1
37	2012	米国	ホテル	噴水、シャワー	114	11	3	LpSG1
38	2013	ドイツ	工場、下水処理場	冷却塔他	159	78	1	LpSG1
39	2014	ポルトガル	肥料工場?	冷却塔	403	377	13	LpSG1
40	2015	米国	ホテル	冷却塔		127	12	LpSG1
41	2015	米国	福祉施設	給湯/給水系		54	13	
42	2015	スペイン	バス乗り場	噴水		238	2	

Pontiac fever、少数の肺炎も

2015年8月の米国イリノイ州Quincyでレジオネラ肺炎の集団感染事例

- **確定54例** (住人の約15%、5人の従業員を含む)。
内死亡13例 (24%、12人は住人)。9月11日以来患者は見つかっていない。死亡9例の時点で死亡者の平均年齢88歳。
- **退役軍人の長期ケア福祉施設の給湯給水系・冷却塔・洗面蛇口・シャワーヘッド・浴槽蛇口から菌が検出された。**
- 200エーカー(80ha)に住人約400人、40以上の建物。郵便局・銀行・集会所・ゲストハウス・教会・動物公園・博物館・上下水・TV局・電気ガス電話がある。**築後129年、古い配管**。イリノイ州の財政危機と地方衛生局の人員削減。
- 対策: 8月21日に給水・水飲み器停止。シャワーからエアレーターを除去、容器入り飲料水を配給。**給湯タンク・空調系の清掃・消毒。給水系の塩素フラッシュ。シャワーにフィルター設置等**。対策に230万ドルかかった。

(写真は<http://journal930.com/>、<http://www.chicagotribune.com/>)



2015年7～8月の米国ニューヨークのブロンクスでレジオネラ肺炎の集団感染事例

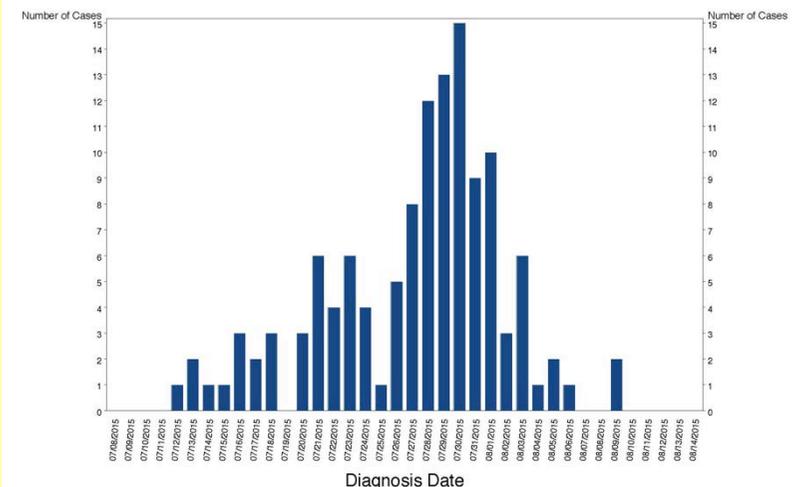
- **確定127例。内死亡12例。**8月3日以来新たな患者はでていない。
- 南ブロンクスの**オペラハウスホテルの屋上の冷却塔**が感染源。25症例の菌株と遺伝子型が一致(ST731)。集団感染の調査でレジオネラ陽性と判明した最初の5ヶ所の冷却塔の内の1つ。
- 冷却塔は稼働2年の最新のもので、市と州の規則にしたがい管理されていた。
- 対策: 30日以内にすべての冷却塔は**登録**されなければならない、その後は**90日毎に点検**されなければならない。ビルの所有者は、2016年3月1日までに**管理計画**を策定し実施しなければならない。

(<http://fivethirtyeight.com/datalab/what-a-bar-graph-can-tell-us-about-the-legionnaires-outbreak-in-new-york/>)



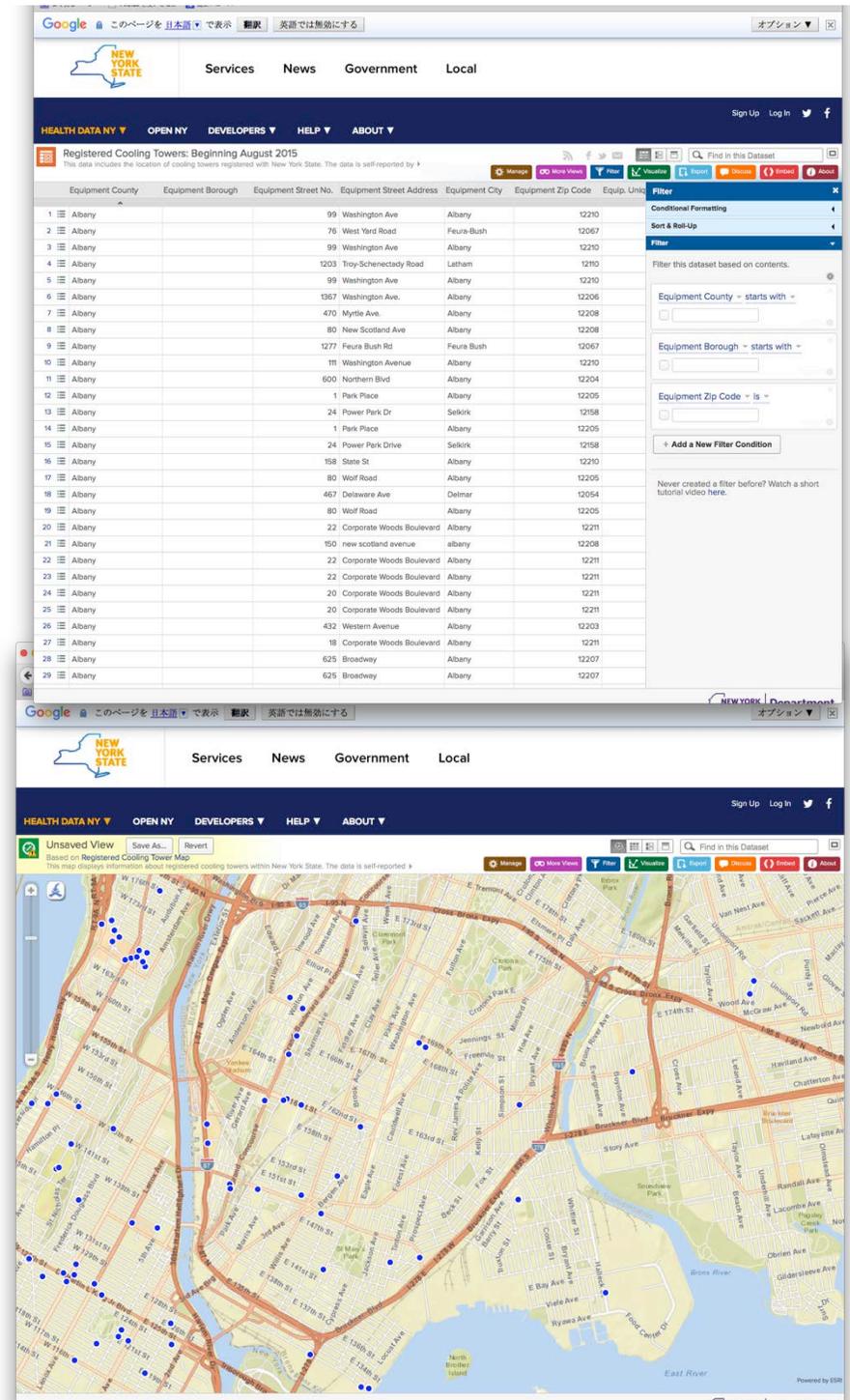
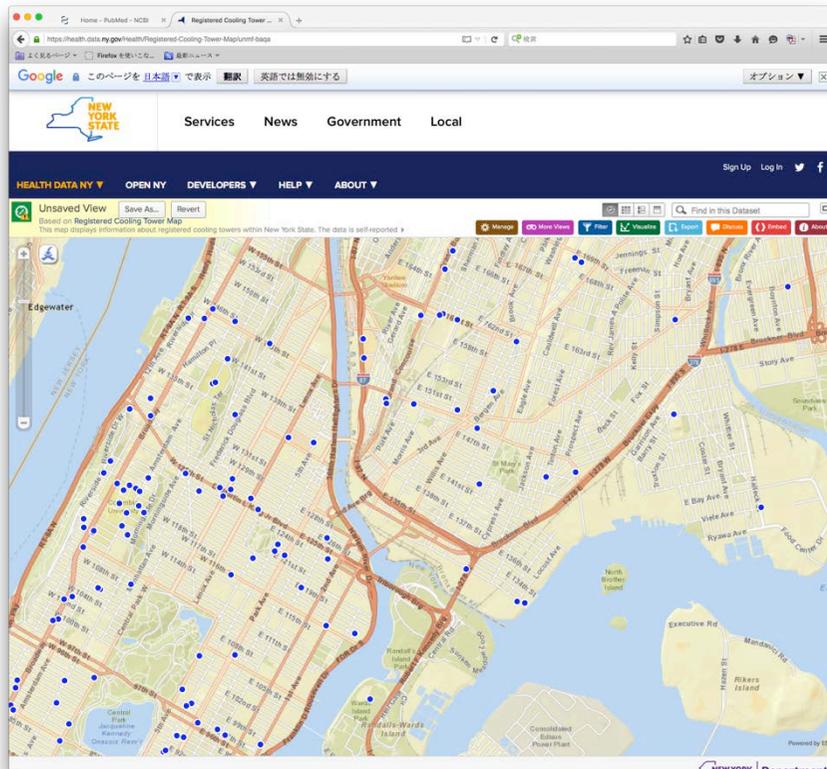
Legionellosis Cluster in the South Bronx

07/09/2015 - 08/14/2015, by day
Last updated 08/15/2015



*Information in this report is preliminary. Date of diagnosis is obtained from provider and laboratory reports. Some cases had delays in diagnosis, as testing for Legionella was not initially done. Onset dates provide a better indication of the progression of the outbreak.

ニューヨーク州で 登録された冷却塔



冷却塔から感染（日本）

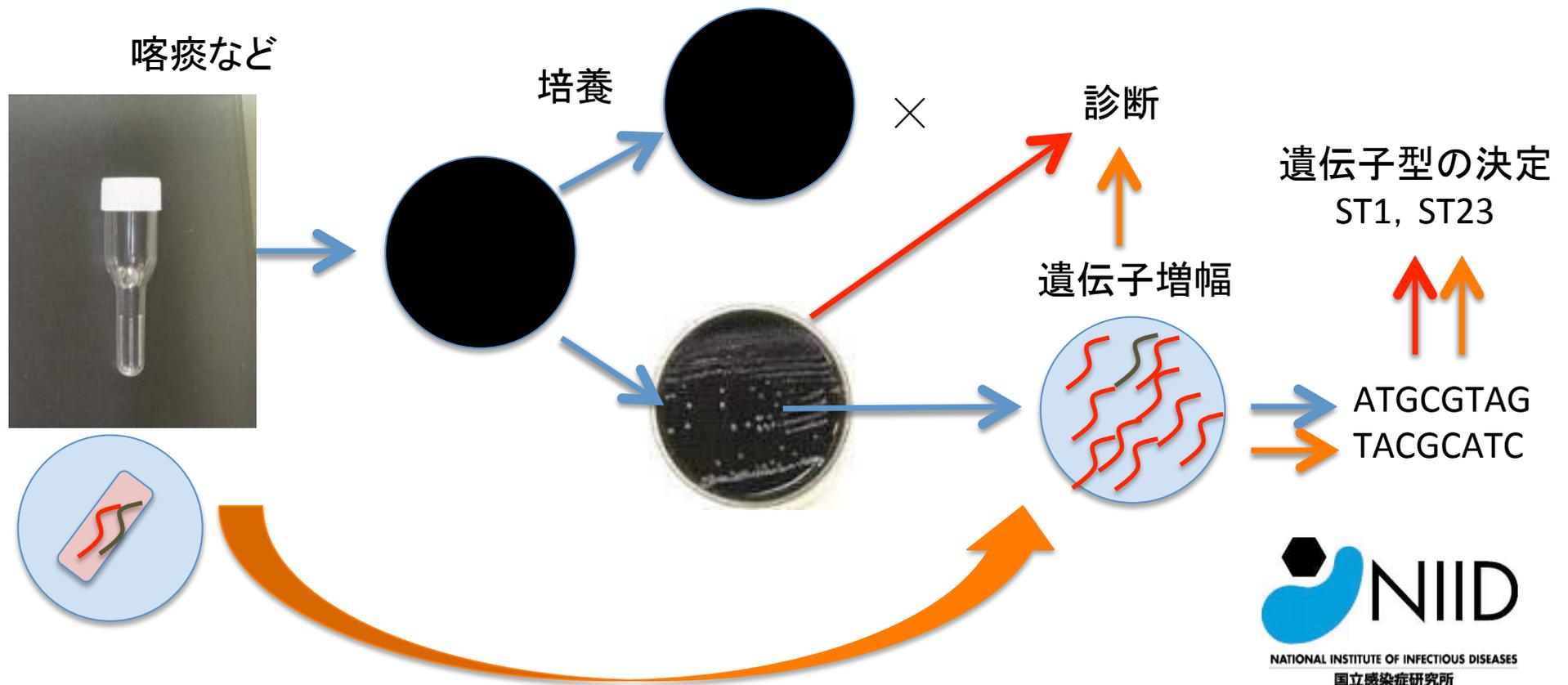
- 松田正法ら、病院内冷却塔からのレジオネラ感染疑い事例—福岡市. 病原微生物検出情報. 36:13-4, 2015、**病院**
- Osawa K, Case of nosocomial *Legionella* pneumonia associated with a contaminated hospital cooling tower. J Infect Chemother. 2014 Jan;20(1):68-70. doi:10.1016/j.jiac.2013.07.007. **病院**
- 藪内英子ら、*Legionella pneumophila* serogroup 7による 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**
- 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**

給湯系による感染

- 岡山大学付属病院 平成15年 院内でレジオネラ肺炎感染・死亡 患者検出菌と給湯系検出菌とが遺伝子型一致
 1. 給湯栓 60°C以上、3分以上フラッシング
 - 2 シャワーヘッド(ホース含む)、老朽配管交換
 - 3 交換後、使用開始前に60°C、3分間フラッシング
- 「岡山大学医学部附属病院におけるレジオネラ症に関する調査報告書」平成15年7月10日 岡山大学医学部附属病院感染予防対策委員会
- 慶応義塾大学病院 平成8年1～2月院内感染が原因で、新生児4人が肺炎や気管支炎を起こし、うち1人が死亡。
 - 新生児室の給湯設備の湯、ミルクの加温器、加湿器などから菌が検出された。
 - 長岡常雄、慶応義塾大学病院レジオネラ症対策報告書、ビルメンテナンス、1996年12月号41-43

菌を分離しなくてもできる 新しい感染源の調査法

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



ISO 11731の改訂

- 1998: ISO 11731 水質 レジオネラの検出と計数
- 2004: ISO 11731-2 菌数の少ない水試料のための
直接膜ろ過法
- 2015年8月 ドラフト 質問の時期
- 2016年8月 是認の時期
- 2016年12月 発行

改訂の要点

- 培地の種類が増えた
- 手順の選択1: 雑菌が少ない、多い、極めて多い
- 手順の選択2: 非濃縮、ろ過膜、ろ過濃縮回収
- 手順の選択3: 未処理、熱処理、酸処理、熱/酸処理
- 手順の選択4: 非選択培地、選択培地、高度選択培地
BCYE, BCYE+AB, GVPC, MWY
- → 場合により培地を2～6枚使用

「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

健衛発0331第7号
平成27年3月31日

1. 消毒法

モノクロラミン

2. 迅速検査法

生菌死菌検査法
生菌検査法

3. ATP測定

ふき取り検査
浴槽水の検査

4. レジオネラ属菌に関する 水質基準の妥当性

5. シャワーの衛生管理

6. 掛け流し温泉の衛生管理

各

都道府県
政令市
特別区

 衛生主管部（局）長 殿

厚生労働省健康局生活衛生課長
（ 公 印 省 略 ）

「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

公衆浴場業及び旅館業におけるレジオネラ症の防止対策については、「公衆浴場における衛生等管理要領等について」（平成12年12月15日付け生衛発第181号厚生省生活衛生局長通知。以下「管理要領等」という。）を踏まえ、循環式浴槽をはじめとする公衆浴場等の施設設備における具体的な管理方法を「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアルについて」（平成13年9月11日付け健衛発第95号厚生労働省健康局生活衛生課長通知としてお示ししているところ）です。

今般、厚生労働科学研究で最新の知見等が得られていること等を踏まえ、本マニュアルを別添のとおり改正するので、貴管下の関係者へ周知方お願いいたします。

なお、「遊泳用プールの衛生基準について」（平成19年5月28日付け健発第0528003号厚生労働省健康局長通知）に基づく遊泳用プールについて、気泡浴槽、採暖槽等の設備その他のエアロゾルを発生させやすい設備又は水温が比較的高めの設備等の循環式浴槽と同様の設備が設けられている場合にも、当該設備の管理が上記マニュアルに準じて行われるよう、関係者への周知方併せてお願いいたします。

- レジオネラ症の国内
外の動向
- ビルと環境
No149 2015.6、
公益社団法人
日本建築衛生管理
教育センター
- 2段組、9ページ
- 感染事例の参考文献
多数



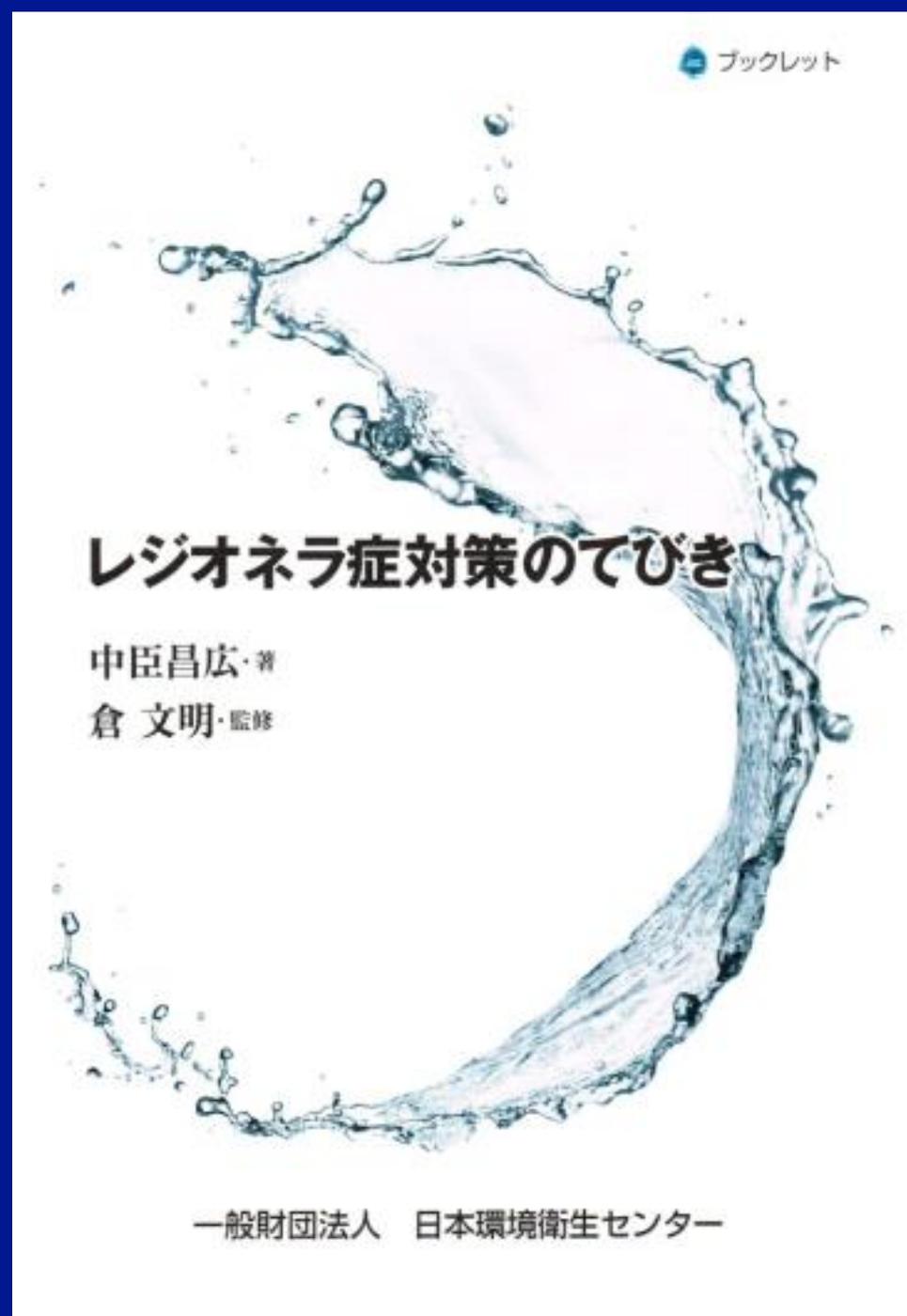
図書の紹介 『レジオネラ症対策 のてびき』

中臣昌広著、倉文明監修

日本環境衛生センター刊
(税別500円)

- 第1章 レジオネラ症の知識
- 第2章 衛生管理の方法
- 第3章 具体的事例
 - <公衆浴場><旅館・ホテル>
 - <スポーツ施設>
 - <介護保健施設><その他>

平成27年8月 第2版



レジオネラ症防止対策の基本 まとめ

- 生物膜等の生成の抑制
- 洗浄・消毒 浴槽・配管・ろ過装置
- 外部から菌の侵入を阻止 源泉、貯湯槽
- 身体をよく洗ってから浴槽に入る

つけない

- 微生物の繁殖の抑制、設備内に定着する生物膜等の除去
- 消毒していない水は使用しない。
 高圧洗浄機、超音波加湿器
 粉塵防止のための散水機
 野菜栽培のミスト系、
 歯科医院
- 温度 20～45℃以外に保つ
- 換水・交換(長期使用でバイオフィーム) シャワーヘッド、ホース

増やさない

- エアロゾルの飛散の抑制、吸引防止
- 気泡湯、打たせ湯 循環している湯を使用しない
- 換気
- マスク 腐葉土、高圧洗浄機(自動車も)

吸い込ませない



1. 採水

Q. 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平成27年3月に改正され、その中で、採水に際して、柄杓等を利用する旨の記載が追加されています。

今回の改正で、柄杓等の利用を新たに追加した経緯と柄杓等の等にはどういったものを想定しているのか、また、柄杓の使用方法は使用毎にアルコール綿で使用箇所をふく等の取扱いでよいのか御教示願います。

- 採水試料の間のコンタミネーション防止のためです。
- 柄杓については、事前に採水状況に合わせ、滅菌または適切に消毒したものの必要本数準備し対応しています。
- 柄杓が必要本数準備出来ない場合は、場所ごとにアルコール綿で十分にふき取りながら消毒し、共洗いしてから採水します。
- 使い捨てにこだわり、ネジカップ等で採水することもあります。

2. SBT型別

Q. レジオネラ症臨床検体について、菌株は分離できなかったが、*L. pneumophila*遺伝子陽性であった場合についてもSBT型別のため感染研に送付した方がよいでしょうか。

- はい。陽性検体DNA試料をお送りくだされば、遺伝子型STに関する情報を返します。

3. ATP測定値とレジオネラの検出率

Q. 検査キットにより測定したATP値とレジオネラの検出率についてATP値いくつでレジオネラの検出率が何%程度になるかといったデータがあれば教えていただきたい。

→ 後出

浴槽の種類(タイルと木製、内風呂とジャグジー)での違いもあればそれも含めて教えていただきたい。

→ タイルの浴槽より、木製の浴槽の方が浴槽水のATP値は低かった。木製の浴槽の方が、十分な塩素消毒を行っている割合が高かったため。

ふき取り検体の ATP/AMP値と レジオネラ検出

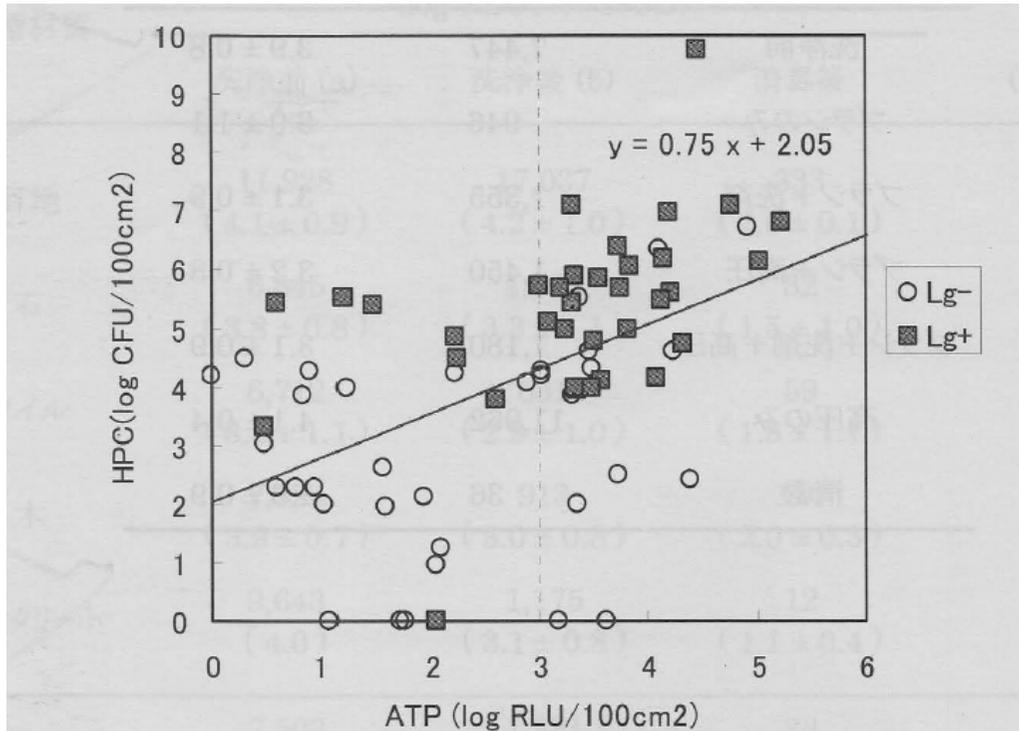


図4 ふき取り検体の ATP 値と従属栄養細菌数 (n=69)
(Spearman の順位相関係数 : 0.55、 $P < 0.01$)

表5 ふき取り検体の ATP 値とレジオネラ属菌検出の有無

RLU	レジオネラ属菌		計	陽性率 (%)
	陽性	陰性		
≥1000	26	14	40	65.0
<1000	8	21	29	27.6
計	34	35	69	49.3

オッズ比 (95%信頼区間) : 4.9 (1.7 - 13.8) $P < 0.01$ (Fisher exact test)

ルミテスターPD-10N

平成18年度

厚生労働省科学研究費補助金

地域健康危機研究事業

主任研究者 井上博雄

「掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法の開発等に関する研究」

ATP/AMPを指標にした レジオネラ対策のための浴槽の衛生管理

現場で測定



	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	32	11%から50%

閾値以上で汚染
率が上昇

浴槽壁の衛生管理例

レジオネラ症発生届に伴う行政検査：
浴槽水 レジオネラ(-)、浴槽ふき取り *L. pneumophila* SG1(+)、
木の浴槽縁に藻、緑色に変色

HLG(常温ガラスコーティング)システム

表4 木浴槽コーティング前後のATP値測定結果

測定日	営業開始前9:30	営業中16:00
H26.4.28(月)(コーティング前)	928	2,928
H26.6.3(火)(コーティング後)	346	678

10cm×10cmふき取り

藤井恵子ら、生活と環境, 60(5):7-69, 2015

4. Index of Discrimination Molecular Typing of Lp1 by PFGE

- ヨーロッパ各地の株99株について調べたところ、83パターン。
(De Zoysa A S and Harrison T G, 1999 J. Med. Microbiol. 48:269-278)
- 日本各地の互いに無関係な臨床あるいは環境分離株47株を調べたところ、41パターン (Amemura-Maekawa J. et al., Analysis of *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates in Japan by pulsed-field gel electrophoresis and monoclonal antibodies. p302-304. In Marre R., et al. (ed.), Legionella, ASM Press, Washington, D. C., 2002)。
- どちらの場合もindex of discrimination (Hunter PR, Gaston MA. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. J Clin Microbiol. 1988 Nov;26(11):2465-6.)は、0.99です。ある2株のPFGEパターンが一致したときにそれが偶然ではない確率が0.99。
- しかし、パリで患者から分離された株の30%が同じPFGEパターンになり区別がつかず、ランダムに選択された環境分離株25%にも同じPFGEパターンがみられた。(Lawrence C. et al. 1999 J. Clin Microbiol. 37:2652-2655)。同じくフランスでは、Lorraine株が最近、患者から多く分離されてきているが環境からはあまりとれていない (Ginevra C. et al. 2008 Emerg Infect Dis 14:673-675)。そのように特定の地域・国が特定のPFGEパターンの菌株で広く汚染されているという例はあります。日本ではまだ報告されていない。

Index of Discrimination

Molecular Typing of Lp1 by PFGE (2)

- 富山県の臨床あるいは環境分離株73株(その内互いに無関係な株は64株)を調べたところ、52パターンに別れた(Kanatani JI et al., Molecular epidemiology of *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates identify a prevalent sequence type, ST505, and a distinct clonal group of clinical isolates in Toyama Prefecture, Japan. J Infect Chemother. 2012 Dec 27. on line.)。ある2株のPFGEパターンが一致したときにそれが偶然ではない確率が0.984。
- 東京都の互いに無関係な臨床あるいは環境分離株39株を調べたところ、39パターン(古畑 勝則ら、*Legionella pneumophila*血清群1群のパルスフィールドゲル電気泳動パターン、防菌防黴32巻6号 Page287-291、2004)。ある2株のPFGEパターンが一致したときにそれが偶然ではない確率が1.000。
- 福岡市の互いに無関係な環境分離株31株を調べたところ、31パターン(瓜生 佳世ら、公衆浴場水から分離された*Legionella pneumophila*株の遺伝子解析、福岡市保健環境研究所報29号 Page150-153、2004.09)。ある2株のPFGEパターンが一致したときにそれが偶然ではない確率が1.000。
- 沖縄県の互いに無関係な環境分離株30株を調べたところ、25パターン(久高 潤ら、パルスフィールド電気泳動法による環境由来*Legionella pneumophila*血清群1の遺伝子多型解析、沖縄県衛生環境研究所報40号 Page77-81、2006.12)。ある2株のPFGEパターンが一致したときにそれが偶然ではない確率が0.986。

index of discrimination

- $=1 - \frac{\sum n(n-1)}{N(N-1)}$

N: 総株数

n: ある型の株数

例: 特定のSTがn株あり、偶然一致する確率は、
 $\frac{n(n-1)}{N(N-1)}$

独立して分離された臨床分離株151株中、SBTでST1が
8株あれば、0.0025

15株あれば、0.0093

34株あれば、0.049

5. 検査法 感度と時間

Q. 現在の検査法の中で検出感度の最も高いもの、検査時間が短いものはそれぞれ何か。検査時間に関して、最も短いものでどの程度かかるのか。

- リアルタイムPCRやLAMP法が検出感度が高い。
- 反応に約1時間。
- 検体の調製時間は検体数に依存しますが、検体の濃縮作業時間は考えないものとして、1-2時間かかります。検体数が少ない場合は、前準備をしておけば、30分程度で行えるでしょう。
- 臨床検体の場合(市販のキットはLAMP法のみ)は、調製時間は最短でも1時間かかります。
- 市販されているレジオネラDNA検出のためのキットは2つあります。リアルタイムPCR法キットが、LAMP法キットより、レジオネラDNAの検出感度は高くなっています。
- 培養法に対する感度としては、両者は同等であると評価されています。
- イムノクロマト法が検査時間が短い。菌体の検出感度は低い。

6. 冷却塔

Q. 冬季に水を抜く冷却塔では、レジオネラはその期間中どこで生息しているのか。経年的に同じ冷却塔のレジオネラを検査した場合、遺伝的な近縁性が示されるのか。

- 図にありますように、冷却塔には接続する配管と、冷凍機がつながっています。
- 冷却塔の水抜きは、冷却塔の清掃のために下部の水槽までの水を抜くのが一般的です。よって、配管や冷凍機内部の水はそのままだことが多いです。水抜きをすると、湿った状態で放置されるので、酸素との接触が多くなり腐食する場合があります。また、運転開始時に水を入れた場合配管が複雑だとエア抜きなどに苦労するなどの問題があります。
- また、冷却塔を乾燥した場合でも、アメーバ類のシスト中にレジオネラが残っていることもあります。
- モデル冷却塔で菌種の調査結果をすると比較的短期間で変化しているようです。

