

感染源の特定のために必要な呼吸器  
検体からのレジオネラ属菌の分離  
～病院側～

宮城厚生協会 坂総合病院 呼吸器科  
生方 智

# 本日の内容

- 2013年のレジオネラ肺炎増加に関する概要の報告
- 当院における微生物検査体制
- 検体提出時の注意点・留意点
- 臨床現場からの提案

# 当院において2013年に診断した レジオネラ肺炎10例の臨床像の検討

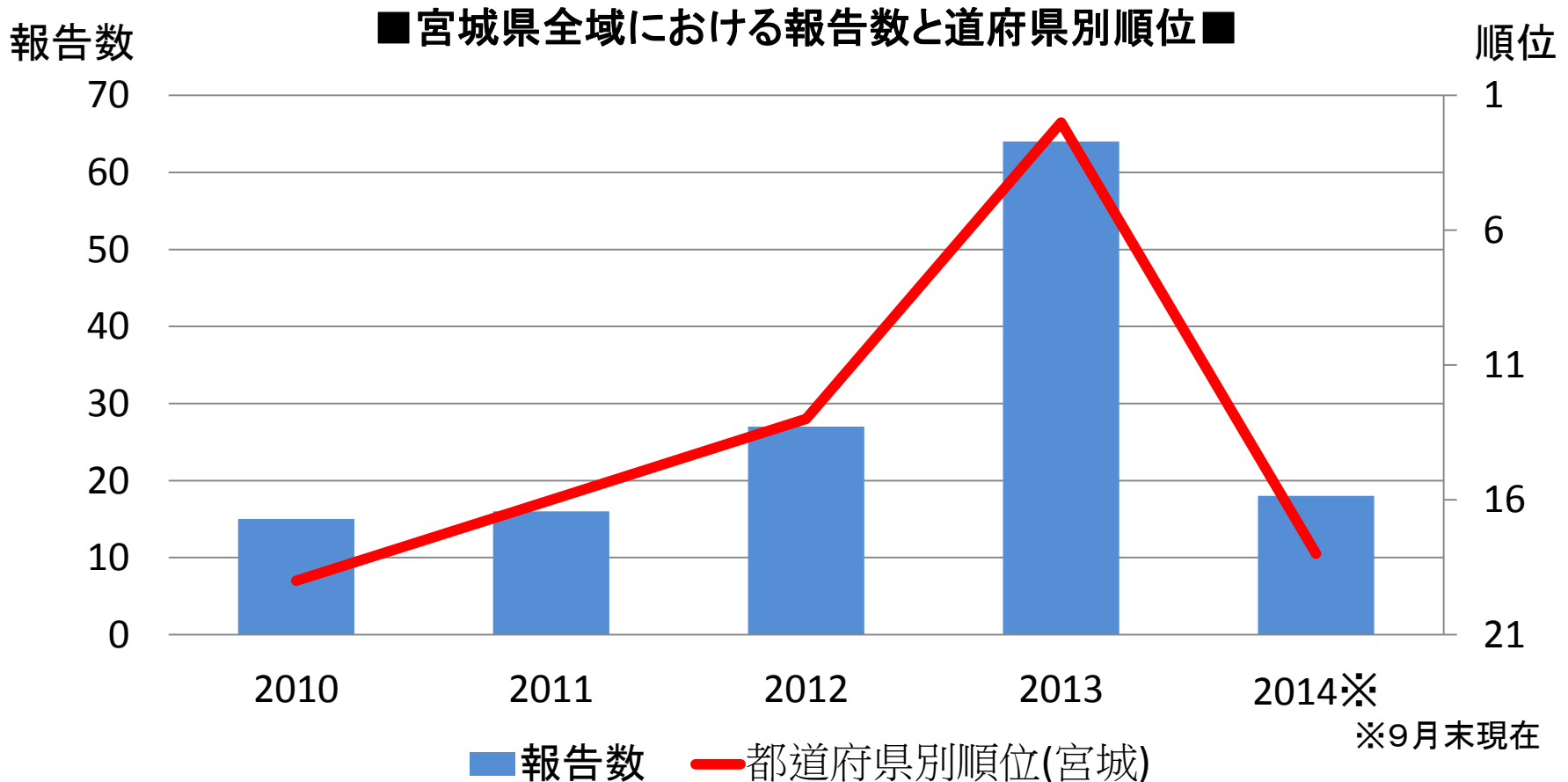
宮城厚生協会 坂総合病院呼吸器科

生方 智、神宮 大輔、矢島 剛洋、庄司 淳、渡辺 洋、高橋 洋

第63回日本感染症学会東日本地方会総会学術集会

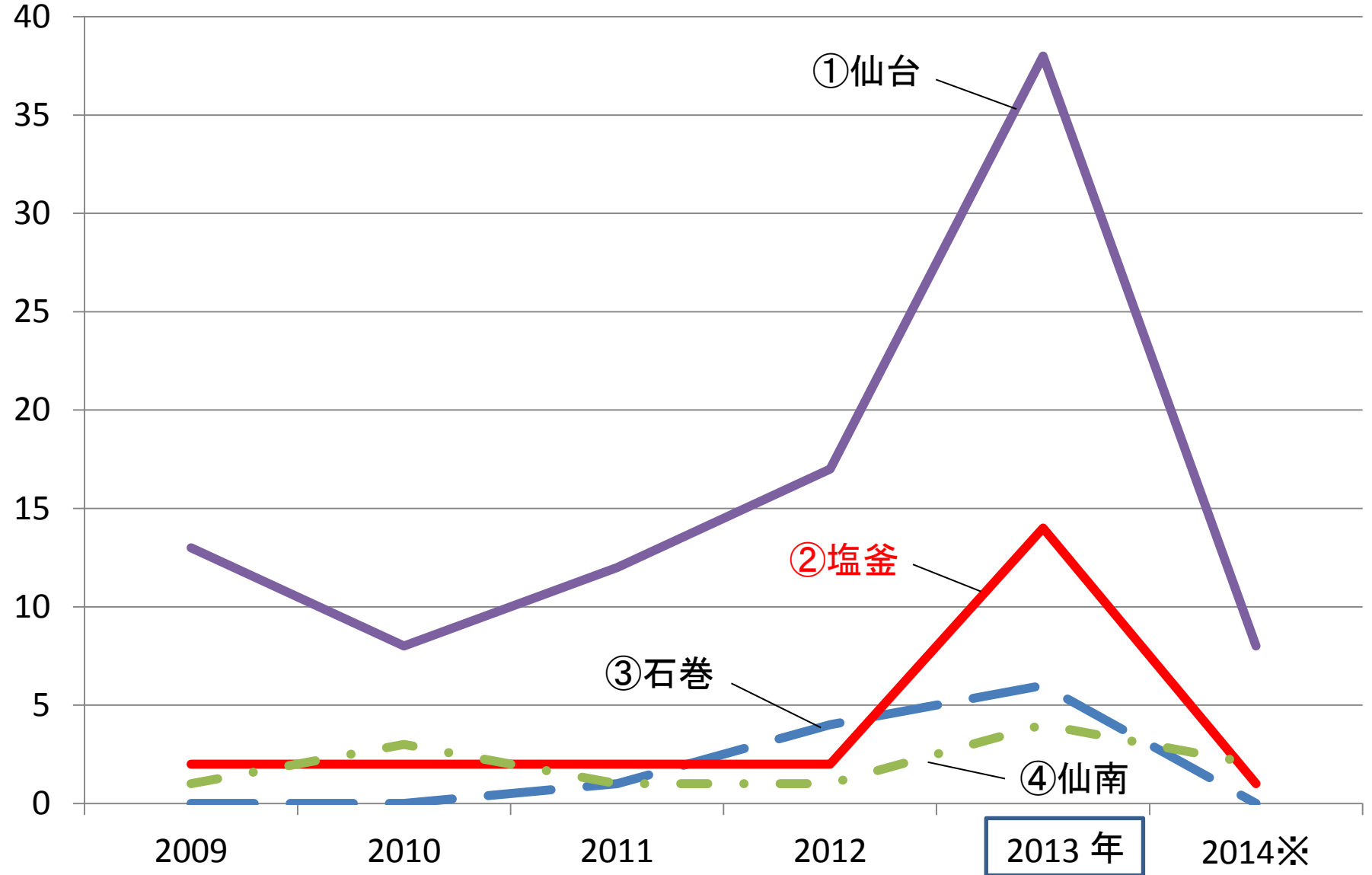
# 背景

- レジオネラ症の都道府県別の報告数では東京、神奈川、大阪が毎年上位を占めている。
- 当院のある宮城県からの報告数は**毎年中位**であるが**2013年のみ大阪府に並び2位(65名)の報告数**であった。



# 保健所管轄区域毎のレジオネラ症報告数

(人)



# 塩釜保健所管轄内レジオネラ症届出数と 当院の肺炎症例に占めるレジオネラの割合

	2009	2010	2011	2012	2013	2014
a)塩釜保健所管内	2	2	2	2	14	2
b)当院	1	2	1	2	10	1
(当院診断割合) a)／b)	50%	100%	50%	100%	71.4%	50%
c)当院年間全肺炎数 (院内肺炎を除く)	N.A	478	578	411	451	318
(レジオネラ肺炎の割合) b)／c)	N.A	0.4%	0.2%	1.2%	2.2%	0.3%

# 各症例の細菌学的特徴と暴露背景

	尿中 抗原	LAMP	培養※	喀痰品質 (Geckler分類 <sup>†</sup> )	推定暴露経路
①76/M	+	ND	SG1	G5	自宅(環境菌と一致)
②88/M	+	ND	SG1	G1	不明
③93/M	+	ND	Negative	G1	自宅リフォーム?
④62/M	+	ND	SG1	G4	自宅クーラー?
⑤64/M	-	+	SG1	G4	不明
⑥61/M	+	ND	SG1	G5	不明
⑦49/M	+	ND	SG1	G1	自動車整備?
⑧83/M	-	+	SG6	G3	不明
⑨78/M	+	ND	Negative	G1	温泉?
⑩83/M	+	ND	Negative	G4	不明

ND: not done

※いずれも*L. pneumophila*

† Geckler分類: 喀痰の検鏡による分類  
G4-5(良質痰) G1-2(不良痰)

# 分離された*L. pneumophila*株のSBT法による遺伝子解析結果

国立感染症研究所 前川純子先生、倉文明先生に依頼

菌株番号	感染研 受付番号	血清 群	遺伝子型	ST No.	遺伝子型備考	グループ*
Le1095	NIIB3275	1	6,6,3,28,9,4,11	1857	国内環境	B1
Le1097	NIIB3276	1	2,3,5,13,2,1,6	1187	国内環境	S1
Le1098	NIIB3277	1	2,3,9,10,2,1,6	23	国内外	S1
Le1099	NIIB3278	1	8,3,3,15,21,1,6	294	国内外	S1
Le1100	NIIB3279	1	2,3,9,13,56,5,6	905	国内	S1
Le1101	NIIB3280	1	2,3,5,10,2,1,6	507	国内	S1
Le1102	NIIB3281	6	6,6,15,6,4,14,9	1945	新規遺伝子型	

\*血清群 1 の環境分離株の遺伝子型から、浴槽水分離株が多い遺伝子型グループを B1-3、土壌分離株が多い遺伝子型グループを S1-3、冷却塔水分離株が多い遺伝子型グループを C1-2 としています。

当地域では一時的なレジオネラ肺炎の増加を来したが、SBT法において症例間の菌株の一致は認めなかった。



# 考 察

- 当地域において2013年にレジオネラ肺炎症例が急増したが、その後の発症状況をみると、当地域においては**一過性の増加**であった。
- SBT法の結果からは同一株の流行ではなく、何らかの条件が重なって、**孤発例が局地的に多発した**ものと推測された。
- 今回は当初アウトブレイク(集団感染)かと考えられたが、孤発例の集簇であった。今後も疫学的な評価のためにも気道検体の採取・保存や菌株の確保が必要と考えられた。

# 当院における微生物検査に関して

## 院内

- 細菌検査室は**院内に常設**（検査技師5名体制）。
- 一般的な細菌、真菌の分離は可能。
- 抗酸菌検査、頻度の少ない微生物培養（レジオネラ等）検査は外注。
- PCR法は院内で施行可能。
- **日常的に臨床医と検査技師との直接的な情報の共有化がなされている。**



臨床経過に即して、柔軟な検査の実施がある程度は可能

# 当院における検体提出状況と分離状況

	2012	2013	2014	2015	計
a)培養依頼件数(外注)	2	17	4	6	29
b)レジオネラ症例※ (尿中抗原／LAMP法)	2 (2/0)	10 (8/2)	1 (1/0)	3 (3/0)	16 (14/2)
c)培養陽性例	1	7	0	0	8
培養陽性率(c/b)	50%	70%	0%	0%	50%

※尿中抗原陽性例にはLAMP法は追加していない。

尿中抗原またはLAMP法陽性例は全例培養検査を提出  
それ以外は重症肺炎など症例を選んで検体を提出



迅速検査陰性例(検査前確率の低い)検体からは分離されていない

# 当院における検体採取、処理の留意点

- 不適切な喀痰検体については再度の検体採取を積極的に試みている(良質検体の採取)。
- 市中病院であり、抗菌薬未投与例も多く、可能な限り抗菌薬投与前に検体採取を試みている。
- 必要に応じて気管支鏡検査など侵襲的検査を施行。
- 検体の採取量：  
重症・難治性の肺炎であるほど、検索対象菌が増える(一般細菌、真菌、抗酸菌、レジオネラ等)。  
⇒それぞれに提出できる検体量が少なくなる  
(培養検査が偽陰性になる要素の一つ)

# 外注先におけるレジオネラ分離方法

検体(喀痰) 最低1ml以上は必要 (セミアルカリプロテアーゼによる溶解・均一化)

**熱処理** 検体を50°Cの温浴中で30~40分の加熱処理(ウォーターバスを使用)  
※20~30分のほうが分離がよい可能性もあり。

GVPC培地に接種

36±1°Cにて3~10日間湿潤箱に入れて好気培養(湿った脱脂綿を入れて乾燥を防ぐ)

**同定** 少なくとも**3日目以降**に発育したコロニーを対象とする  
斜光法でコロニーを確認(浸潤灰白色、大小不同、淡い酸臭)  
血液寒天培地とGVPC培地に純培養  
⇒血液寒天培地(-)、GVPC培地(+)の菌株をレジオネラと疑う

**ヒメネス染色** 鏡検し赤く染色されることを確認する  
特に、馬尿酸加水分解試験(+)、自発蛍光(-)  
(暗所にて365nmの紫外線を培養物に照射し、黄緑)にて性状の一致した菌株を*L. pneumophila*と同定。それ以外を*Legionella sp.*とする)。

●国立感染研ではデンカの免疫血清で血清群検査を施行。あるいはPCR法で*L.pneumophila*特異的なmip遺伝子陽性をもって*L.pneumophila*とする。

# 臨床現場での対応

～一般病院／当院のレジオネラ検査に関するスタンス～

- ・尿中抗原検査、LAMP法などの迅速検査が次々と保険適応となった結果、診断が容易となり報告件数も増えた。
- ・一方、レジオネラ肺炎の治療はエビデンスが蓄積された治療(キノロン系抗菌薬)があり、耐性化も日常診療では現時点で問題となっていない。

診断がつけば治療法がある(ほぼ決まっている)ので、わざわざ**レジオネラ培養検査まで行わないことが多い**：  
⇒培養検査の提出件数が増えない理由の一つ。

# 【臨床医の意識が及ばない点】

診断時点では孤発例なのか、集団感染の一部なのかは各病院単位では判別がつかない。

## 【首都圏・大都市などの人口密集地域】

患者の絶対数は多いが、病院数も多いため患者が分散し、地域で患者が増加・多発しているのか、集団感染が起きているのかが各病院単位では分かりにくい可能性がある。

## 【地方都市】

患者数の絶対数は少ないが病院数も少ないので、普段からレジオネラ症例が集まる地域総合病院では患者数の動向に注意が向きやすいかもしれない。

いずれにせよ感染源の特定する努力を行わないと、患者が続発したり、集団感染が起こり得る：

⇒呼吸器検体の培養が重要になる。

**検体の確保**をどのようにするかが重要ポイント。

# レジオネラ培養検査提出の日常臨床における問題点

**レジオネラ培養検査**は医師会を通じて外注検査(当院の場合)

・当院では1検体につき5,000円の病院負担  
(細菌培養同定検査の保険点数(160点)ではカバーできない。  
同時に一般細菌の検査も通常行うので、レジオネラの培養  
検査はほぼ病院の全額負担の検査)。

⇒提出すればするほど病院のコスト負担が増える。

## 【院内検査とするためのハードル】

①レジオネラ肺炎は他の一般細菌と比較して**遭遇頻度の低い**  
肺炎であり、**専用培地にも使用期限**があるので、**培地の廃棄**  
**率が高くなり**、病院のコスト負担が増える。

②肺炎全症例を行うには**検査技師への負担**が増える。

⇒単施設でルーチン検査として組み込むのは現状では困難。



# 尿中抗原検査とLAMP法の使い分け

## 尿中抗原検査

## LAMP法

カバー菌種



Lp SG1のみ※



Lp SG1を含む11菌種21株

不適切検体  
による影響

×

(尿)

○

(**喀痰**)

迅速性

◎

(15分)

▲<sup>†</sup>

(外注3~6日)

※Lp: *Legionella pneumophila*

† 院内検査であれば翌日に判明するが、施設に常備するかは導入費用と使用頻度やランニングコストの問題がある。

LAMP法の保険適応により、検査件数が増えれば  
**喀痰検体の確保**の閾値は下がる。

# 臨床現場からの検体提出件数・ レジオネラ分離件数を増やすには

- 検査するだけ病院や担当科の持ち出しで赤字が増える現状である限り、迅速検査による診断・届出件数は増える反面、培養検査件数や分離件数の増加は期待しにくい。
- 例えば、LAMP法が保険適応となったので、LAMP法陽性例の喀痰検体(凍結あるいは生検体)をどこかに集中して送って分離を試みるように各地域の地研(又は検査会社)と細菌検査室(病院)が連携できるシステムが作成できれば、検体提出のハードルは下がると思われる。
- 加えて、臨床現場からは喀痰検体を保存することの閾値は低いので、検査費用面(各病院負担)の問題がクリアされることがより望ましい。

# 謝辞

本報告の作成にあたり、記載の先生方に御指導・御協力をいただきました。ここにお礼申し上げます。

- 倉 文明先生（国立感染症研究所）
- 前川純子先生（国立感染症研究所）
- 山口友美先生（宮城県保健環境センター）