

* 環境におけるレジオネラ症の 感染ルートを探る

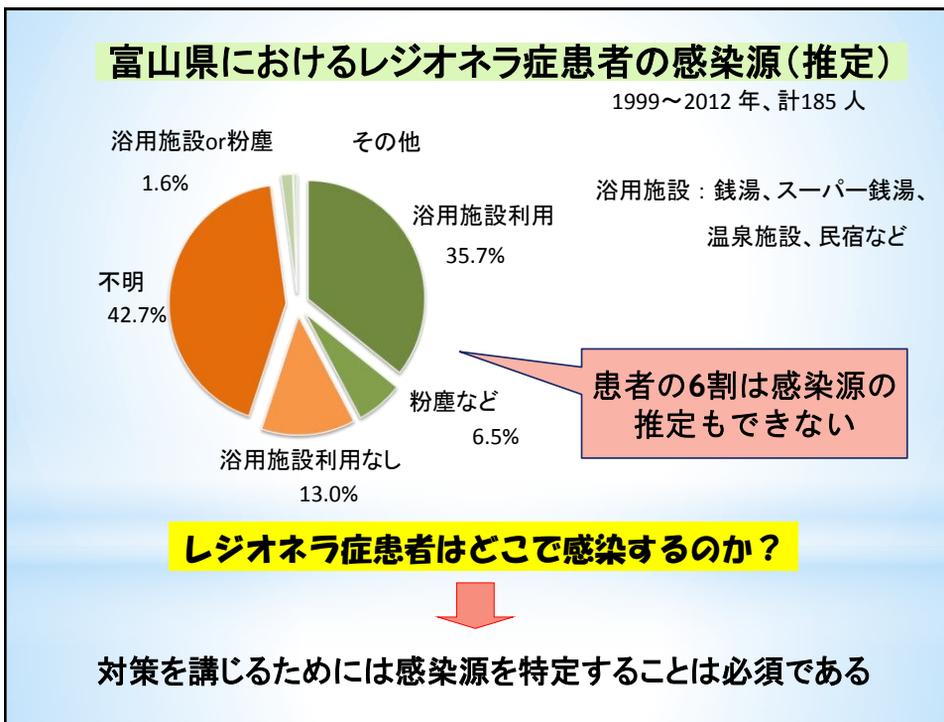
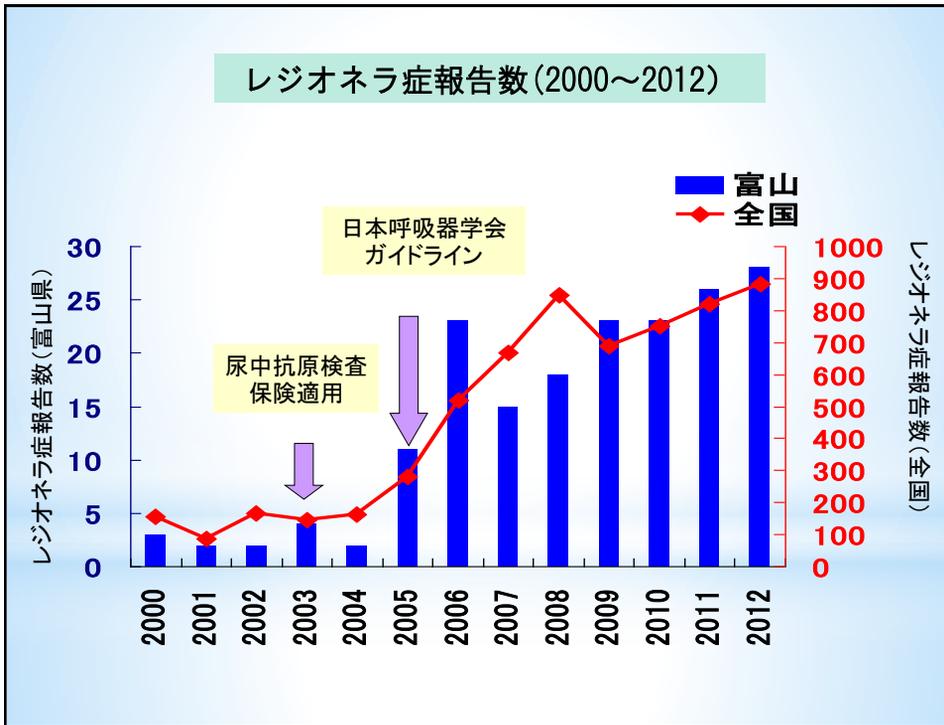
富山県衛生研究所
細菌部
磯部順子・金谷潤一

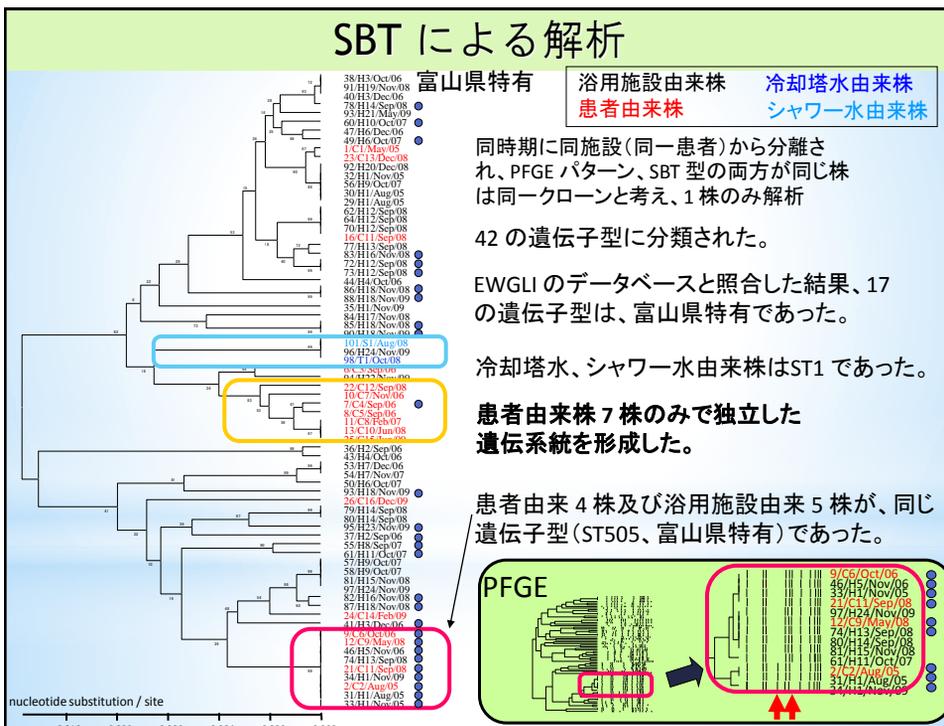
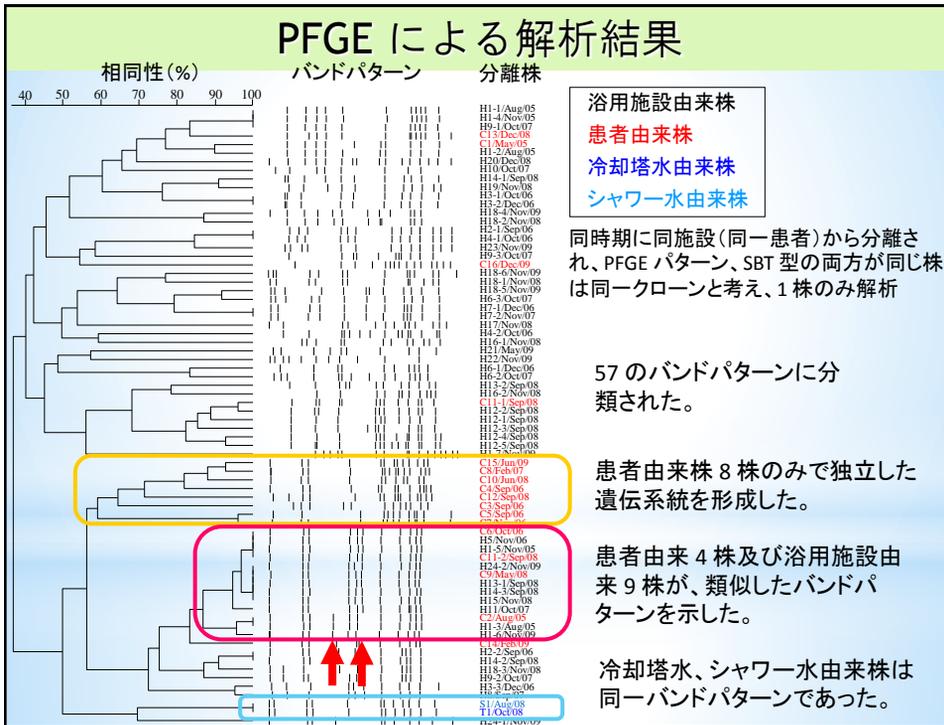
感染源におけるレジオネラ属菌の 分布実態調査

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
公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合衛生管理手法に関する研究

背景

1. 富山県におけるレジオネラ症患者報告
2. 富山県内における患者報告数の地域差
3. 感染源が推定できない患者





PFGE/SBTの解析結果

2005～2009年に分離された*L.pneumophilla*SG1

1. 浴用水由来5株と患者由来4株が同一の遺伝子型であった。
2. 患者由来株7株のみで独立した遺伝系統を形成した。



浴用水ではない感染源の可能性

レジオネラ症の感染源（文献から）

- ・ 土壌(日本)
自家製腐葉土が原因と考えられた *L. pneumophila* SG1 による感染事例
Shimada *et al.*, 2006
- ・ 噴水(アメリカ)
レストランの人工噴水が原因で 18 名が感染
O'Loughlin *et al.*, 2007
- ・ アスファルト道路の路面切削機の噴霧器の水(スペイン)
4 名は培養検査、7名は喀痰の PCR 検査で陽性
Coscolla *et al.*, 2010
- ・ 雨天(日本)
アスファルト道路上の水たまりから *L. pneumophila* を分離
Sakamoto *et al.*, 2009
- ・ 自動車のエアコン(日本)
廃車のエバポレーター拭きからレジオネラ属菌の DNA を検出
Sakamoto *et al.*, 2009
- ・ 自動車のウインドウオッシャー液(イタリア)
疫学的調査からウインドウオッシャー液との関連が疑われた
ウインドウオッシャー液から *L.pneumophila* SG1 を分離
Wallensten *et al.*, 2010
Edward *et al.*, 2012



感染源の探求2

1. 環境からのレジオネラ属菌の分離

1. アスファルトの水溜り
2. 自動車のウインドウオッシャー液
3. 浴用施設で使用されているシャワー水



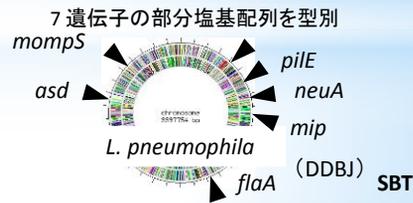
2. 分離菌の遺伝学的関係調査

L. pneumophila SG1について、PFGEとSBTによる遺伝的な関連の調査

3. 分離菌におけるlag-1遺伝子の保有状況調査



PFGE



水たまり調査 (2010年11月～2011年10)



・県内6地点の道路沿い

・69検体 (1回/月)

・フィルターろ過濃縮

検体 150 ml

↓ 0.22 μm フィルター

滅菌水 3 ml

↓ 5 分間振り出し

酸処理 5 分間

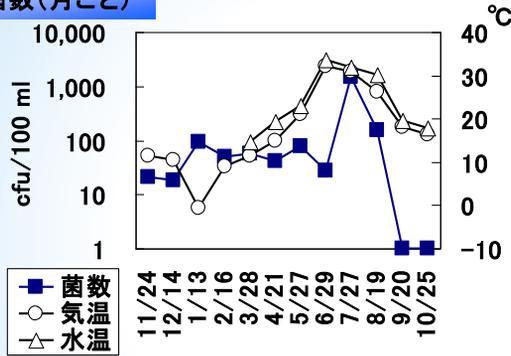
↓ 200 μm コンラージ

GVPC(日研)、

GVPC(極東)、

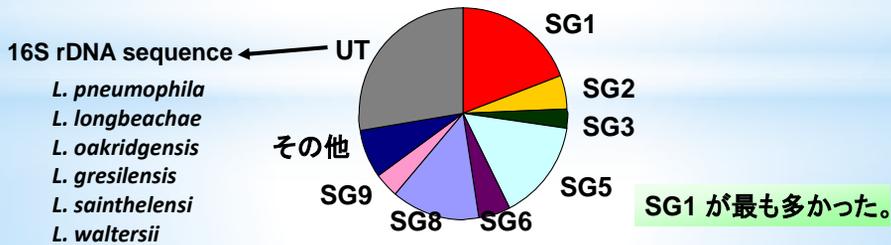
MWY(OXOID)

平均菌数(月ごと)

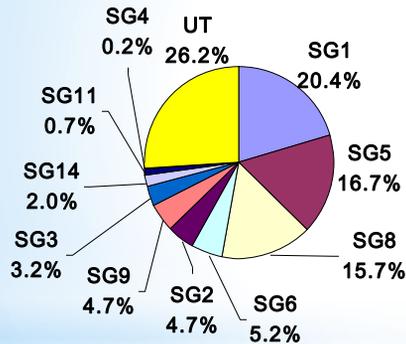


7~8月(夏季)の菌数が比較的多かった。

血清型(分離株 363 株)



血清型(401 株)

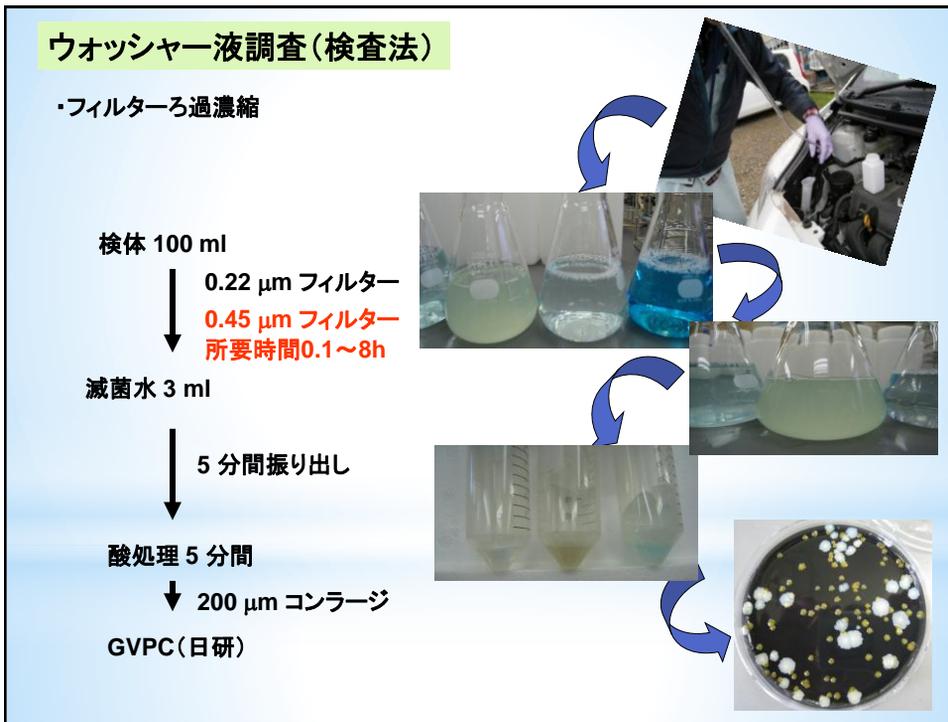
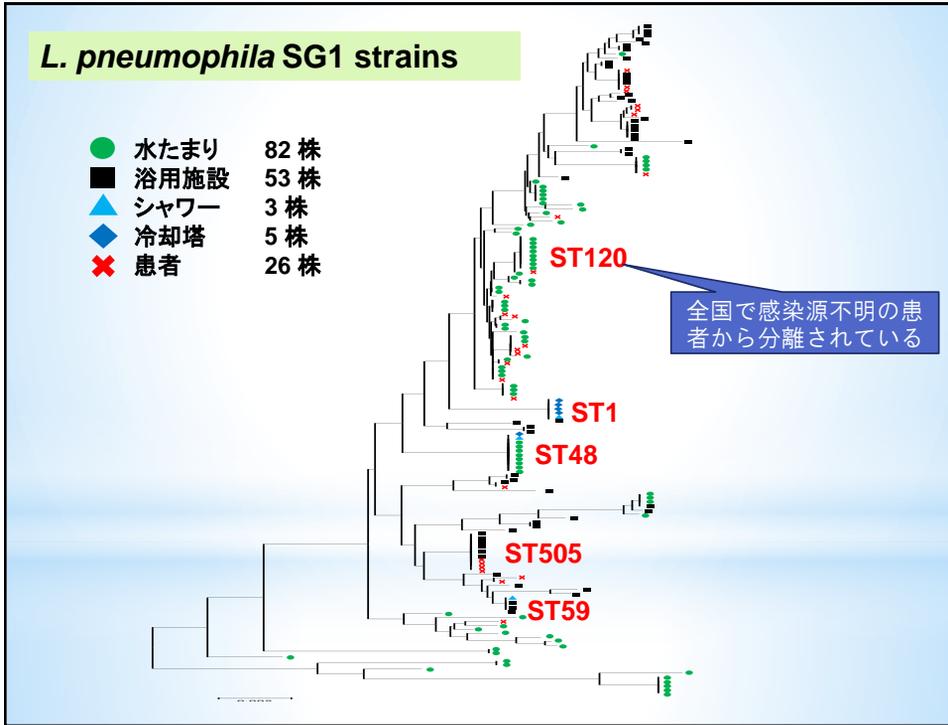


L. pneumophila SG1 (82 株) の ST と lag-1 gene

ST	株数	lag-1+	lag-1-
48	8	1	7
120	8	8	0
1193*	5	1	4
1204*	5	0	5
89	4	4	0
23	3	1	2
132	3	3	0
493	3	0	3
22	2	0	2
384	2	2	0
507	2	2	0
808	2	0	2
1186*	2	2	0
1187*	2	2	0
1198*	2	2	0
Others#	29	19	10
	82	47	35

* 新規登録 ST

新規登録 ST 18/29 株



ウォッシャー液調査(結果)

2010年6月～2011年11月 レジオネラ検出率 10/31 検体(32.3%)

菌数	検体数
10未満	21
10-99	4
100-999	3
>1000	3
合計	31

10検体の内訳

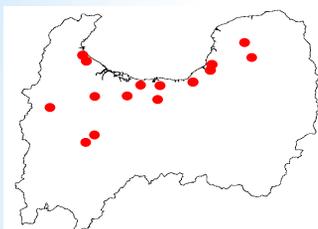
- ・SG5 1検体
- ・UT 9検体

16S rDNA sequence
L. pneumophila
L. waltersii

2010年6月～2011年11月 レジオネラ検出率 3/112 検体(2.6%)

調査協力施設	検体数	陽性数	16S	Mip	分離菌名
①施設A	23	0	11/16	0/1	
②施設B	9	0	3/8		
③施設C	18	0	2/7		
④施設D,E	48	3	26/48	0/48	<i>L. Pneumophila SG5</i>
⑤施設F	14	0	9/14	0/14	

シャワー水調査 (2012年10～11月)



シャワー水
 14浴用施設 18検体

検体採取前に1分間
 水を流す

培養法 (フィルターろ過濃縮)

遺伝子検査法

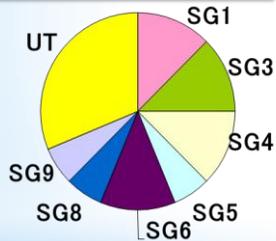
検体 200 ml
 ↓ 0.22 μm フィルター
 滅菌水 4 ml
 ↓ 5分間振り出し
 酸処理 5分間
 ↓ 200 μm コンラージ
 GVPC(日研)

- ・LAMP 法
 DNA 抽出(5% キレックス)
- ・RT-qPCR 法(鳥谷先生)
- ・EMA-qPCR 法(タカラバイオ)

シャワー水検査結果

レジオネラ検出率
7 / 18 検体 (38.9%)

血清型別の陽性検体数



ST と lag-1 gene (2 施設)

施設	ST	lag-1 gene
1	48	—
2	59	—

菌数別

菌数	検体数
10 未満	11
10 - 99	3
100 - 999	4
合計	18

遺伝子検査結果 (LAMP 法)

陽性数 / 検体数
7 / 18 (38.9%)

水道水 / 井戸水

水道水	井戸水
3 / 9 (33.3%)	4 / 9 (44.4%)

lag-1 gene

由来	株数	lag-1 +	割合
患者	26	26	100%
水たまり	82	47	57.3%
浴用施設	53	24	45.3%
冷却塔	5	0	0%
シャワー水	3	0	0%
合計	169	97	57.4%

まとめ

➤ アスファルト道路上の水溜り、車のウインドウウォッシャー液、浴場のシャワー水からなど、環境中にはレジオネラ属菌が広く分布されることが判明した。

水溜り

- *L.pneumophila* SG1の一部が患者から分離されたものと同じのクローンであることが明らかとなった。
- これまでほとんどが感染源不明の患者から分離された「ST120」が、水溜りから分離された。
- 水溜りから分離された*L.pneumophila* SG1株のおよそ6割が病原性との関連性が指摘されている「lag-1」遺伝子を保有した。

水溜まりはレジオネラ症に深く関連すると思われた

ウインドウウォッシャー液

- 人から多く分離される血清型は分離されなかったが、*Legionella*が生息できることが判明した。
- 界面活性剤の使用を強く推奨する。

シャワー水

- *L.pneumophilla* SG1が分離され、ミストも多く発生することから、注意が必要である。

1. 環境調査を実施することで、新しい感染源ルートが推定できた。
2. 患者から分離された菌株との比較が重要であることから、医療機関で培養検査を行うよう広報していきたい。