

病原微生物検出情報

Infectious Agents Surveillance Report (IASR)

<https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr.html>

月報

Vol.45 No. 7 (No.533)

2024年7月発行

国立感染症研究所
厚生労働省健康・生活衛生局
感染症対策部感染症対策課

事務局 感染研感染症疫学センター

〒162-8640 新宿区戸山1-23-1

Tel 03 (5285) 1111

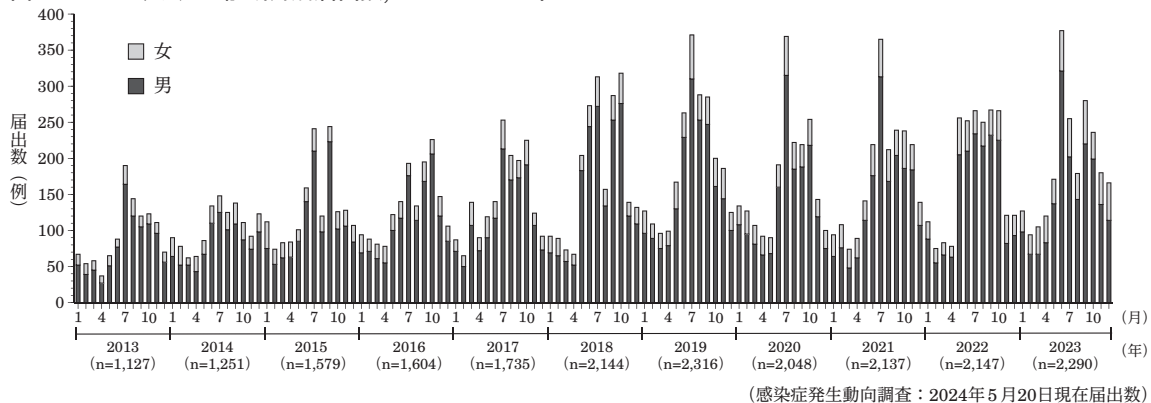
(禁、無断転載)

レジオネラ肺炎の臨床的特徴 4, 循環式気泡浴槽を感染源としたレジオネラ症発生事例の菌株解析: 神戸市 5, 病院の冷却塔に起因したレジオネラ症集団感染事例 6, 冷却塔からの曝露が示唆されたレジオネラ症集積事例 (第1報) 疫学調査と施設対応 8, 冷却塔からの曝露が示唆されたレジオネラ症集積事例 (第2報) 検査対応および分子疫学的解析 10, 尿中原抗原検査により診断し得た *L. longbeachae* によるレジオネラ肺炎の1例 11, オランダにおける廃水処理施設が感染源と特定されたレジオネラ症の集団発生事例 13, 浴槽水のモノクロラム菌によるPCRによる *L. pneumophila* 血清型別法 17, *L. pneumophila* の分子疫学解析 18, レジオネラ・レファレンスセンターの活動 19, レジオネラ対策に関連した通知等, 近年の動向 20, 流行性角結膜炎患者からのヒトアデノウイルス新規リコンビナント株の検出: 広島市 21, 2022年CRE病原体サーベイランス 23

本誌に掲載されている特集の図、表は、1)「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」に基づく感染症発生動向調査によって報告された患者および病原体検出に関するデータ、ならびに2)感染症に関する上記1)以外のデータ、に基づいて解析、作成された。データは次の諸機関の協力により提供されている: 地方衛生研究所、保健所、地方感染症情報センター、厚生労働省検疫所、健康・生活衛生局。なお掲載されている原稿は、本誌から執筆を依頼したものである。

<特集> レジオネラ症 2013~2023年

図1. レジオネラ症の診断月別届出数, 2013~2023年



レジオネラ症は細胞内寄生性のグラム陰性桿菌であるレジオネラ属菌 (*Legionella* spp.) による経気道感染でおこる。感染のリスク因子として、年齢 (50歳以上)、慢性呼吸器疾患、喫煙、免疫不全等がある。原則として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。適切な抗菌薬の投与がない場合、急速に全身症状が悪化することがある (本号4ページ)。レジオネラ属菌は、水中や湿った土壌中等でアメーバ等の原生動物を宿主として存在し、20~45°Cで繁殖し、36°C前後で最もよく繁殖する。エアロゾルが生じる人工水系で適切な衛生管理が行われていないと、生物膜が形成され、本菌が増殖し、感染リスクが生じる。本特集では2013~2023年のデータをまとめた。

患者発生状況: レジオネラ症は、感染症法に基づく感染症発生動向調査において医師に全数届出が義務付けられている4類感染症である (<https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou11/01-04-39.html>)。2013~2023年までに、20,378例が届出された (2024年5月20日現在)。感染地域は、国内が18,045例 (88.6%)、国外325例 (1.6%)、不明2,008例 (9.9%)であった。

診断年月日を月別に集計すると、届出数が最も多い

のは7月で、次いで9月、10月が多く、冬~春にかけては少なく、季節変動がある (図1)。レジオネラ属菌の環境中での増殖やその伝播が温度や湿度の影響を受けることが季節変動の理由と考えられる。人口10万対届出数は富山県、石川県、岡山県、群馬県、栃木県、宮城県、長野県、茨城県、福井県、広島県、岐阜県の順で多く、地域性がみられる (次ページ図2)。

患者の平均年齢は69.4歳 (男性67.6歳、女性77.2歳) で、0~107歳まで幅広く分布していた。50歳以上が93.0%を占めており、30歳未満は0.4%と少ないが、乳児の集団感染が報告されたこともあり、年齢にかかわらず注意を払う必要がある (次ページ図3)。20~90歳は男性の患者数が多く、全体では男性が81.9%で、米国の62.8% (2003~2018年; Emerg Infect Dis 28: 527-538, 2022) より多い。

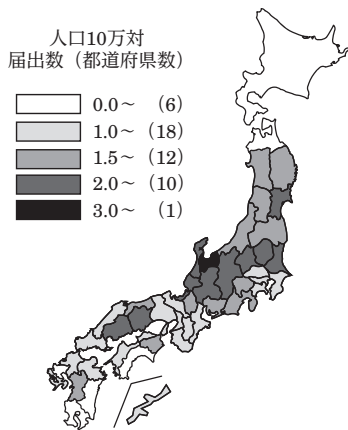
病型は肺炎型が94.3% (19,224/20,378例)、感冒様のポンティアック熱型が4.8% (982/20,378例)、無症状病原体保有者が0.8% (172/20,378例) であり、肺炎型が大半を占めた。届出時死亡は255例であった。発生届に記載された症状を3ページ表1にまとめた。

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 流行以降のレジオネラ症の届出状況: 国内においてCOVID-19の流行が拡大して以降、ヒトからヒトへ飛沫により感染する呼吸器疾患の届出数は、大きく減少した (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-vol44/11760-idx515>。

(2ページにつづく)

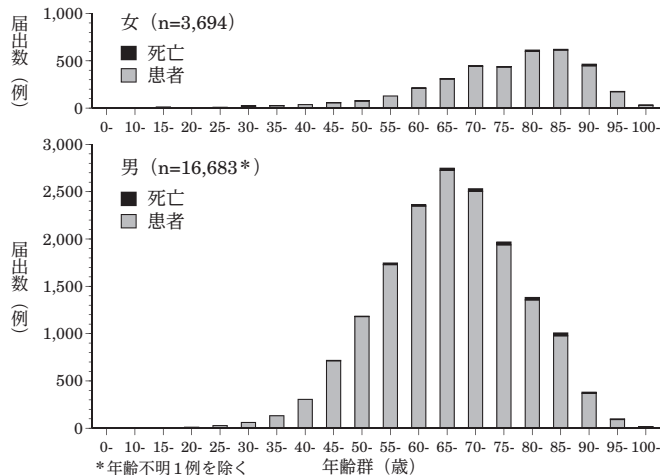
(特集つづき)

図2. レジオネラ症の都道府県別届出数, 2013~2023年



(感染症発生動向調査: 2024年5月20日現在届出数)

図3. レジオネラ症の性別年齢群別届出数, 2013~2023年



(感染症発生動向調査: 2024年5月20日現在届出数)

html, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-vol42/10799-idx501.html>, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-vol45/12496-idx527.html>。一方, 同期間のレジオネラ症届出数の減少はわずかであった(2019年届出数: 2,316例, 2020年: 2,048例, 2021年: 2,137例, 2022年: 2,147例, 2023年: 2,290例, 前ページ図1)。これは, レジオネラ症が, 環境中のレジオネラ属菌を含んだエアロゾル吸入により感染する疾患であることと関連している可能性がある。COVID-19に対する感染対策は, ヒトからヒトへ飛沫により感染する疾患に対して特に効果が大きいと考えられた。

診断法: レジオネラ症届出20,378例中, 尿中抗原検出と記載のあったものが19,485例(95.6%), 病原体遺伝子の検出763例(3.7%), 分離・同定421例(2.1%), 血清抗体の検出111例(0.5%), 蛍光抗体法による病原体抗原の検出18例(0.1%)であった(複数の検査法が記載された例を含む)(3ページ表2)。前回の2008~2012年の特集(IASR 34: 155-157, 2013)と比較すると, 尿中抗原検出による診断がほとんどを占める状況に変化はなく, 病原体遺伝子の検出は1.5%から3.7%に増加した。

起因菌: 病原体検出情報サブシステムに報告された症例の起因菌と, 国立感染症研究所細菌第一部レジオネラ・レファレンスセンター(本号18&19ページ)に送付された菌株について, 菌種および血清群の内訳をそれぞれ3ページ表3に記載した。

集団感染事例等: 2013~2023年にかけての集団感染事例を3ページ表4に示した。直近の事例として, 2022年3月に神戸市の宿泊施設の浴槽における2例(1例死亡)の感染事例(本号5ページ), 2023年7月に宮城県の病院の冷却塔に起因する21例の集団感染事例(本号6ページ), 2023年9~10月に大阪府の冷却塔に起因する20例の集団感染事例(本号8&10ページ)等がある。

感染経路: 本症はレジオネラ属菌を含むエアロゾルや塵埃を吸入することにより発症する。エアロゾルを生じうる感染源としては, 3ページ表4にも示されてい

ような入浴施設, 冷却塔, 加湿器等がある。他に高圧洗浄機, 給湯・給水設備, 廃水処理施設等も感染源となる(本号13ページ)。レジオネラ症患者に多くみられる職業は, 建設・採掘従事者, 輸送・機械運転従事者で, 塵埃吸入のリスクがある。園芸, 農作業等も, 特に高齢者ではリスクとなりうる(本号11ページ)。災害後の浸水建造物清掃や, がれき撤去等での感染事例もある(IASR 34: 160-161, 2013)。届出によると, 感染経路(確定・推定)は, 水系感染が6,386例(全報告に占める割合: 31.3%), 塵埃感染が1,180例(5.8%), その他(不明を含む)6,818例(33.5%)(以上重複あり), 記載なし6,425例(31.5%)となっている。

対策: 人工水系によるレジオネラ症防止対策の基本は, 1) 微生物の繁殖および生物膜等の生成の抑制, 2) 設備内に定着する生物膜の除去, 3) エアロゾル飛散の抑制, 4) 外部からの菌の侵入の阻止, である。そのためには, 1) 水の消毒(本号14ページ)を行い, 適切な培養(本号14ページ)あるいは迅速検査(本号16ページ)等で確認する。エアロゾルを直接吸引する恐れのある浴槽水等の衛生管理基準値は100mL当たり10CFU未満(不検出)である。2) 浴槽壁や各種タンクの内面の清掃が必須である。3) 各種設備はエアロゾルの飛散を防ぐ構造が要求される。4) 浴槽壁の洗浄作業や腐葉土の取り扱いには, 防塵マスクを着用した慎重な作業が求められる。

本症の予防には, レジオネラ対策(厚労省)(<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000124204.html>), 建築物衛生(厚労省)(<https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/seikatsu-eisei09/03.html>), 第5版レジオネラ症防止指針(日本建築衛生管理教育センター)等に沿った適切な衛生管理が必須である(本号20ページ)。

感染拡大防止には, 疫学情報に基づき臨床検体と環境検体の双方から菌株を分離して, 分子疫学を用いることにより感染源を特定し, 消毒・設備撤去等の対策を講じることが重要である(本号5, 6, 10, 17&18ページ)。

(特集つづき) (THE TOPIC OF THIS MONTH-Continued)

表1. レジオネラ症発生届に記載のあった臨床症状と割合, 2013~2023年 (n=20,378)

	発熱	咳嗽	呼吸困難	腹痛	下痢	意識障害	肺炎	多臓器不全	その他
例数	18,581	8,108	7,003	466	2,029	3,047	18,538	1,613	2,980
割合 (%)	92.0	40.1	34.7	2.3	10.0	15.1	91.7	8.0	14.7

割合の分母として届出数 (20,378例) から無症状病原体保有者 (172例) を除いた20,206例を用いた。症状は複数記載を含む

(感染症発生動向調査: 2024年5月20日現在届出数)

表2. 発生届に記載のあったレジオネラ症の診断方法, 2013~2023年 (n=20,378)

診断方法	例数
分離・同定による病原体の検出	421
蛍光抗体法による病原体抗原の検出	18
尿中の病原体抗原の検出	19,485
検体から直接の病原体遺伝子の検出	763
血清抗体の検出	111

診断方法は複数記載を含む

(感染症発生動向調査: 2024年5月20日現在届出数)

表3. 年別起原因菌と*L. pneumophila*の血清群, 2013~2023年

病原体検出情報サブシステムに報告された起原因菌

起原因菌	<i>L. bozemani</i>	<i>L. longbeachae</i>	<i>Legionella</i> spp.	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. pneumophila</i> の血清群内訳 (再掲)														起原因菌合計			
					1	2	3	4	5	6	7	9	10	1&13	1&5	1&8	3&14	Not typed		UT*		
2013年	0	0	0	18	17	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18
2014年	0	0	0	20	16	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	20
2015年	0	0	0	43	40	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	43
2016年	0	1	3	66	58	2	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2	0	0	70
2017年	0	0	5	91	84	2	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	96
2018年	0	0	3	68	66	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	71
2019年	0	0	13	89	81	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0	102	
2020年	1	0	5	52	47	2	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	58	
2021年	0	0	0	63	54	2	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	63	
2022年	0	1	2	59	55	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	62	
2023年	0	1	6	81	64	2	2	0	1	7	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	88	
合計	1	3	37	650	582	17	4	1	8	14	1	4	1	1	1	1	1	13	1	0	691	

*UT: untypable

(病原体検出情報サブシステム: 2024年5月31日現在)

レジオネラ・レファレンスセンターに送付された菌株

起原因菌	<i>L. bozemanae</i>	<i>L. longbeachae</i>	<i>L. dumoffii</i>	<i>L. feeleii</i>	<i>L. anisa</i>	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. pneumophila</i> の血清群内訳 (再掲)														起原因菌合計
							1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	13	14			
2013年	0	0	0	0	0	45	40	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	45
2014年	0	0	1	0	0	45	38	0	2	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	46
2015年	1	1	0	0	0	84	79	1	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0	86
2016年	0	1	0	0	0	64	61	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	65
2017年	0	0	0	1	0	102	92	2	3	1	3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	103
2018年	0	0	0	0	1	72	68	2	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	73
2019年	0	1	0	0	0	88	81	2	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	89
2020年	0	0	0	0	0	46	42	1	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0	46
2021年	0	0	0	0	0	59	54	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	59
2022年	0	2	0	0	0	42	34	4	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	44
2023年	0	1	0	0	0	55	41	1	4	0	1	6	0	1	0	1	0	0	0	0	56
合計	1	6	1	1	1	702	630	19	12	2	8	11	2	3	7	5	2	1	0	0	712

表4. レジオネラ症集団感染事例, 2013~2023年*

発生年月	都道府県	発生施設・感染源	患者数	死亡者数	起原因菌
2013年4月	宮崎県	高齢者施設・入浴設備	2	0	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2014年5月	埼玉県	温泉施設	3	1	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2014年8月	静岡県	温泉施設	8	0	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2015年2月	新潟県	スポーツクラブ・入浴設備	2	0	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2015年5月	岩手県	入浴施設	13	1	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2015年6月	神奈川県	温泉施設	7	0	<i>L. pneumophila</i> 血清群1、血清群13
2017年3月	京都府	旅館・温泉設備	3	0	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2017年3月	広島県	温泉施設	58	1	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2017年12月~2018年1月	大分県	高齢者施設・加湿器	3	1	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2018年1月	北海道	バス自動洗車装置	2	0	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2019年1月	北海道	高齢者施設・加湿器	3	1	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2019年6~7月	-	フェリー・入浴設備	3	0	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2019年7~8月	静岡県	温泉施設	13	0	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2019年8月	山形県	温泉施設	3	0	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2019年10月	兵庫県	ラドン浴施設・加湿器	4	0	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2021年12月	広島県	温泉施設	4	0	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2022年3月	兵庫県	旅館・温泉設備	2	1	<i>L. pneumophila</i> 血清群1
2023年7月	宮城県	病院・冷却塔	21	2	<i>L. pneumophila</i> 血清群1

*2013年~2023年7月までに報道・公表された事例

(第5版レジオネラ症防止指針より引用, 改変)

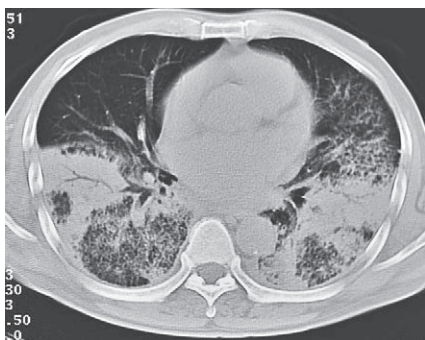
<特集関連情報>

レジオネラ肺炎の臨床的特徴

診断・検査と患者への対応

1. レジオネラ肺炎を疑う臨床的特徴

レジオネラ肺炎の臨床症状は、軽い咳、微熱程度のもから意識障害をともなう劇症肺炎まで多彩であり、臨床症状だけから本症を診断することはできない。通常、潜伏期間は2～10日と長い。病初期においては発熱、全身倦怠感、筋肉痛、食欲不振などの非特異的症候から始まり、次第に咳嗽、喀痰、胸痛などの呼吸器症状が全面に出てくる。レジオネラ肺炎患者にしばしばみられる症状として、頭痛、傾眠、昏睡、脳炎症候などの精神神経症状があり、本菌肺炎を疑った場合には意識レベルの変化を注意して観察する必要がある。身体所見としては、肺野におけるラ音、胸部X線における肺炎の存在に加え、相対的徐脈、低血圧などもしばしばみられる。胸部X線所見として本症に特徴的なものはないが、多発性陰影、胸水貯留を示す頻度が高く、膿胸へと進展する症例もある。Sakaiらはレジオネラ肺炎患者のHRCT画像の解析を行い、その特徴について報告している(図1)¹⁾。検査値所見としては、軽度の肝機能障害を示す症例が多く、CPK上昇、低Na血症、低P血症、尿潜血などもみられる。また、胸部X線所見に比し低酸素血症が強いことが多く、重症例においては急性呼吸窮迫症候群(ARDS)、播種性血管内凝固(DIC)、多臓器不全(MOF)へと進展する頻度が高い。



文献¹⁾より引用

図1. レジオネラ肺炎患者の胸部HRCT像

2. 確定診断法

確定診断には、まず臨床サイドが本症を疑うことが第一であり、そのうえで以下に示す検査を行う。

1) 塗抹・培養検査: 検体中のレジオネラはグラム染色では染色されにくい。逆にグラム染色では優位な細菌が観察されず、ヒメネス染色あるいはアクリジンオレンジ染色などで細胞内増殖を示す細菌が観察された場合には、レジオネラを強く疑う。本菌の培養には、BCYE α 培地やWYO培地といった特殊培地の使用が不可欠であり、通常4～7日で乳白色大小不同のコロニーが観察される(図2)。

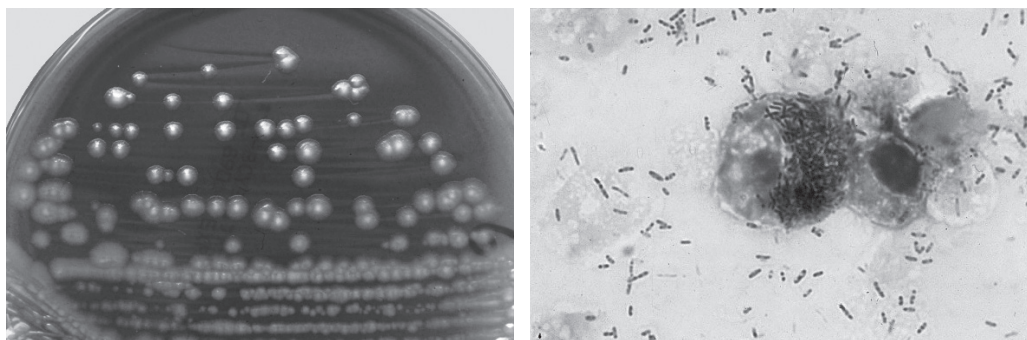
2) 血清抗体価測定: 間接蛍光抗体法(IFA)、酵素抗体法(ELISA)などの他に、デンカ株式会社によってマイクロプレートを用いた凝集法が開発されている。重症症例、免疫不全宿主においては有意な抗体価上昇がみられないことがあることから注意する必要がある。

3) 尿中抗原検出: レジオネラ肺炎患者においては尿中に多量の菌体抗原が排出されることから、患者尿を用いた免疫クロマトグラフィー法による診断が可能である。特別な機器を必要とせず、約15分で結果が判定できる。本検査は、レジオネラ肺炎の中の*Legionella pneumophila*血清群1の診断法として開発されたが、最近になってレジオネラ属を広く診断することができる可能性のある検査法が利用可能となっている。

4) 遺伝子診断: *L. pneumophila*, あるいはレジオネラ属に特異的なプライマーによるPCR法を用いた遺伝子診断が可能となっている。本法の感度・特異度は良好であるが、キット化されているLAMP法も含め、現在のところ一般施設で実施できる検査法とはなっていない。また、症例によっては疑陰性を示すものもあることから、可能な限り上記検査法を併用して実施することが望ましい。

3. 患者への対応

本症を疑った場合には、速やかに抗菌薬療法(後述)を開始するとともに、集団発生の可能性がある場合には感染源の特定を試みる。具体的には、潜伏期間内あるいは発症後に患者周囲に同様な臨床症状を示す者がいかに注意するとともに、感染源としての可能性の高い施



左: BCYE α 寒天培地に発育したレジオネラのコロニー 乳白色で大小不同が特徴
右: マクロファージ内で増殖するレジオネラ(ヒメネス染色像)

図2. レジオネラのコロニーと細胞内増殖

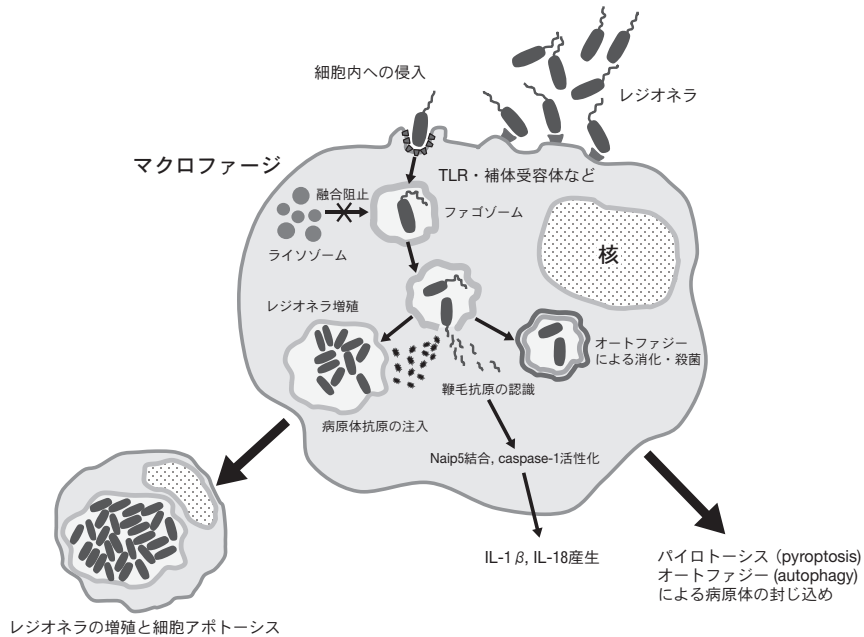


図3. レジオネラの細胞内増殖メカニズムと感染発症病態（推定図）

設・設備への接触（冷却塔、温泉、循環式浴槽など）の有無を確認する。入院患者にレジオネラ肺炎がみられた場合には、病棟内水系を介した院内感染の可能性が高いことから、院内環境調査を含め慎重に対応する必要がある。本菌のヒトからヒトへの感染は確認されておらず、したがって本症患者を隔離する必要はない。

具体的な治療法

1. 治療方針の立て方

本症の進展は早く、適切な抗菌薬療法が遅れると、しばしば重篤化する。本菌は細胞内増殖性細菌であることから、その有効性を左右する因子として抗菌薬の細胞内移行性が重要となる。マクロライド系、ニューキノロン系抗菌薬、リファンピシンなどの薬剤は細胞内移行性が良好で、*in vitro* 抗菌効果も高い。最近の診断法・抗菌薬療法の進歩にとまぬ、その予後は改善してきているものの、免疫不全宿主における致死率は10%を超えており、決して満足できるものではない。

2. 薬物療法

マクロライド系、ニューキノロン系抗菌薬、リファンピシンが第一選択となり、次いでST合剤、クロラムフェニコール、テトラサイクリン系抗菌薬が有効である。軽症に対してはマクロライド剤あるいはニューキノロン剤の単剤投与が行われるが、中等症～重症例においてはこれら薬剤の併用療法、あるいはリファンピシンの併用が行われる。最近報告された21論文のマクロライド剤とニューキノロン剤の比較において、レジオネラ肺炎に対する両剤の有効性に関して有意な違いはみられなかったことが報告されている²⁾。

話題：細胞内におけるレジオネラの増殖機構（図3）³⁾

最近になって、レジオネラ属細菌の細胞内増殖機構に関して新しい知見が報告されている。本菌がマクロ

ファージなどの貪食細胞に取り込まれると、ファゴソーム内でレジオネラはIV型の分泌機構と呼ばれる装置を用いて宿主細胞内に病原因子を注入する。一方、この過程でレジオネラの菌体成分の1つである鞭毛抗原も細胞内に侵入することになる。生体細胞は、この鞭毛抗原をNAIP分子などで認識しているようであり、生体にとって有利なオートファジーあるいはパイロトーシスと呼ばれる病態が誘導される。一方、レジオネラは自身の増殖のちアポトーシスによって感染細胞を死滅させようとする。菌の増殖とアポトーシスが進むのか、オートファジー・パイロトーシスで菌の増殖が止められるのか、感染細胞におけるレジオネラと宿主のせめぎ合いのメカニズムが解明されつつある。

本話題の引用元であるレジオネラ症防止指針（第5版）が2024年7月に発行されており、本症の防止対策に関しては、こちらを参考としていただければ幸いである。

参考文献

- 1) Sakai F, *et al.*, J Comput Assist Tomogr 31: 125-131, 2007
- 2) Jasper AS, *et al.*, Clin Infect Dis 72: 1979-1989, 2021
- 3) 公益財団法人 日本建築衛生管理教育センター，第5版レジオネラ症防止指針，2024年

東邦大学医学部
微生物学 舘田一博

<特集関連情報>

循環式気泡浴槽を感染源としたレジオネラ症発生事例における菌株解析 — 神戸市

はじめに

令和4（2022）年3月中旬に宿泊施設大浴場を利用し

た神戸市外の2名を診察した医師からレジオネラ症発生届出があった。患者1名の喀痰から複数の *Legionella pneumophila* serogroup 1 (SG1) sequence type (ST) 138 が分離された。当該浴場は、かけ流し温泉浴槽と循環式気泡浴槽の2つの浴槽を有しており、浴槽水、浴槽内部や気泡板のふきとり、ヘアキャッチャー、ろ過器等の検査を実施したところ、14カ所からレジオネラ属菌を検出した。また、気泡浴槽水、ヘアキャッチャー、ろ過器から患者株と同一遺伝子型の株が分離された。患者由来株と環境由来株の *L. pneumophila* SG1 ST138 について、同一性をより詳細に調べるため、全ゲノム解析を実施した。

対象と方法

菌株は、同一患者喀痰由来14株、環境由来18株（気泡浴槽水由来5株、ヘアキャッチャー由来5株、ろ過器由来8株）、および2013年に当該施設の気泡浴槽水から分離された1株を加えた計33株を解析対象とした。NucleoSpin Tissue kit (MACHEREY-NAGEL) を用いてゲノムDNAを抽出し、QIAseq FX DNA Library Kit (QIAGEN) によるライブラリ調製を行い、MiSeq (Illumina) によりリードデータを取得した。菌株の同一性を調査するため、*L. pneumophila*, Paris株 (Accession no.: CR628336.1) をリファレンスとして、BactSNPを用いてsingle-nucleotide variant (SNV: 一塩基多型) 解析を実施した¹⁾。組み換え領域の除去はGubbinsを用いた²⁾。

結果と考察

本事例において分離された菌株間のsingle-nucleotide variants (SNVs) は0-42個であった。同一患者由来株は大きく3つのクレードに分かれた(図)。クレードIは、SNVsが0-1個の患者由来株のみで構成された。一方、クレードII・IIIには、患者由来株と気泡浴槽水やヘアキャッチャー由来株の両方が含まれ、それら株間のSNVsは4個以下であった。疫学的に関連のある菌株間のSNV数は5個以下との報告があることから³⁾、循環式気泡浴槽が感染源であると判断した。

同一患者由来株間のSNVsは0-41個と多様であったことから、浴槽などエアロゾルが発生する環境に長時間滞在することで、環境に存在する多様な株に曝露された可能性が考えられた。その一方で、患者株と近縁な環境由来株が分離できていないクレードが存在していたことから、感染源特定のためには、種々の環境からレジオネラ属菌を分離することに加え、状況に応じて複数の患者分離株を解析に加える必要があると考えられた。

さらに、2013年の当該施設分離株(KL0954)との比較においては、いずれの患者由来株ともSNVsは30個前後であり、浴槽由来の一部およびろ過器由来株とのSNVsが10個以内であった。したがって、少なくとも2013年から施設内に定着し、多様にクレードが分岐した可能性が考えられた。

本事例では、疫学調査、施設の衛生管理の実態、レ

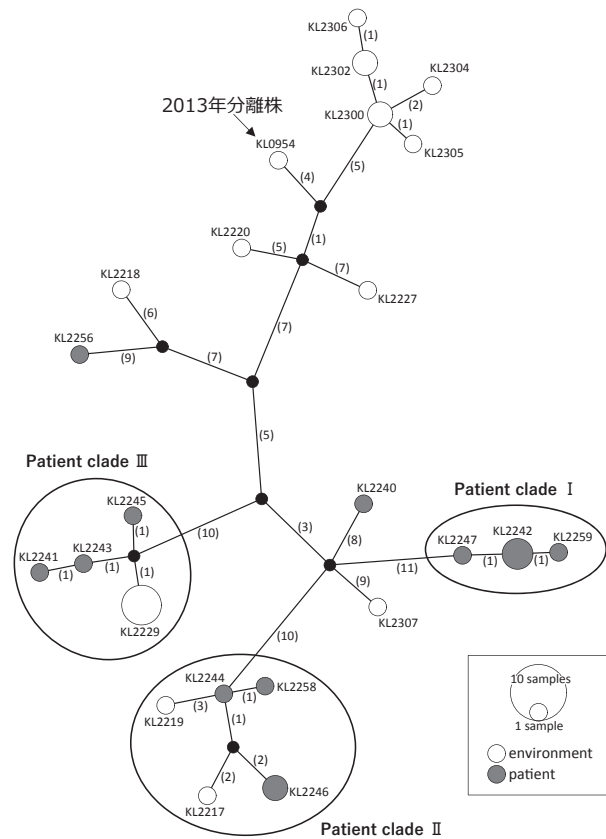


図. *L. pneumophila* SG1 ST138 (33株) のコアゲノムSNVsに基づくハプロタイプネットワーク図 (文献4一部改変)

ジオネラ属菌検出状況と合わせて、分離菌株の全ゲノム配列のSNV解析が感染源特定の判断に有用であった。今後、レジオネラ症事例においても、全ゲノム解析を用いた菌株同一性の確認が必要な場合が増えていくと考えられた。

参考文献

- 1) Yoshimura D, *et al.*, Microb Genom 5: e000261, 2019
- 2) Croucher NJ, *et al.*, Nucleic Acids Res 43: e15, 2015
- 3) Raphael BH, *et al.*, Appl Environ Microbiol 82: 3582-3590, 2016
- 4) Nakanishi N, *et al.*, Microorganisms 11: 28, 2022

神戸市健康科学研究所感染症部
小松頌子 田中 忍 野本竜平
向井健悟 中西典子

<特集関連情報>

病院の冷却塔に起因したレジオネラ症集団感染事例について

1. 事例の概要

令和5(2023)年7月頃から、大崎保健所管内にある病院(以下、X病院)で、受診歴のある8人および利用歴の無い近隣住民等13人がレジオネラ症を発症し、うち2人が死亡するレジオネラ症集団感染事例が発生した。初動調査の結果、X病院の冷却塔2基から9,700万

および6,800万CFU/100mLものレジオネラ属菌が検出され、冷却塔と患者から検出されたレジオネラ属菌の血清群および遺伝子型が一致したことから、冷却塔が原因であると考えられた。

なお、冷却塔とは、空調設備等を冷やす冷却水の温度を下げるための装置で、ファンにより取り込んだ空気を冷却塔内側の冷却水や散布水に当てて、蒸発した水の気化熱を利用している。冷却塔は屋外に設置されるため、風雨により汚れて、レジオネラ属菌が繁殖する。汚染された水がファンにより飛散してしまうことがあるため、維持管理には注意が必要である。「建築物における維持管理マニュアル」¹⁾や「レジオネラ症防止指針」²⁾では、レジオネラ属菌が100CFU/100mL以上検出された場合は直ちに洗浄し、検出限界以下(10CFU/100mL未満)であることを確認すること、とされている。「建築物等におけるレジオネラ症防止対策について」³⁾では、レジオネラ属菌の繁殖を抑えるために、冷却水の交換、消毒および清掃を行うこと、とされている。

2. 調査方法

(1) X病院に感染源となる設備の有無、冷却塔および外調機(外気を建物病室内に導入する外気処理空調機、温湿度の調整やフィルターの機能がある)の維持管理等について聞き取り。

(2) 冷却塔、入院患者が利用し得る給水給湯設備を対象とし、採水検体を用いてレジオネラ属菌数を測定⁴⁾。

(3) 冷却塔の充填材(水と空気を効率よく接触させる)および外調機のプレフィルター、洗浄対応型中性性能フィルターを対象とし、ふきとり検体を用いて遺伝子検査(real-time PCR検査)を実施。

3. 調査結果

(1) 聞き取りの結果

イ. 冷却塔の清掃方法

- ・冷却塔内部の水槽はデッキブラシを使用し、こす

り洗い。

- ・充填材はハンドブラシを用いて、両端部分のみをこすり洗い。
- ・上記の物理的清掃は、稼働開始前の春と稼働終了後の秋の計2回実施し、(薬剤による)化学的洗浄は実施していない。

ロ. 冷却塔の維持管理方法

- ・冷却水中に複合型冷却水処理剤を投入し、レジオネラ属菌を抑制。
- ・冷却水に汚れがあっても、複合型冷却水処理剤を投入しているため清掃は行わない。
- ・毎年1回(7月)冷却水のレジオネラ属菌検査を実施。

(2) 給水給湯設備の検査結果

- ・受水槽、高架水槽、厨房、病棟の洗面台、シャワー室の採水検体による培養検査では、レジオネラ属菌は未検出、PCR検査は陰性であった。

(3) 冷却塔および外調機の検査結果

- ・時系列の検査結果等は表のとおり。
- ・7月5日の検体採水時に、冷却塔内部の水槽内壁のぬめりおよび冷却水の濁りを確認した。また、冷却塔内部に藻が生えており、充填材にはスケールの蓄積があることを確認した。
- ・7月5日の外調機のふきとり検体(フィルターを通過した室内側)のPCR検査では、一部の検体で陽性となった。

4. 集団感染に至った原因と考察

(1) 冷却塔設備の清掃不十分

ハンドブラシによる清掃では充填材の中心部分まで汚れを落とすことができず、物理的清掃が不十分であったと考えられた。また、使用開始前に化学的洗浄を実施していなかったことにより、(冷却水を室内の冷房装置に送る)循環配管中の汚れを除去できていなかった

表. 冷却塔および外調機のレジオネラ属菌の培養検査結果

採取日	検体名	採取方法	遺伝子検査結果	レジオネラ属菌の培養検査結果	
				定性	定量(CFU/100mL)
7月5日	冷却塔No.1	採水	+	陽性	6,800万
	冷却塔No.2				9,700万
	冷却塔No.1	ふきとり	-	陰性	未実施
	冷却塔No.2				
	1階外調機プレフィルター				
	1階外調機中性性能フィルター				
	2階外調機プレフィルター				
	2階外調機中性性能フィルター				
	3階外調機プレフィルター				
3階外調機中性性能フィルター					
7月9日	清掃業者による冷却塔本体の物理的清掃				
7月14日	冷却塔No.1	採水	未実施	陽性	480万
	冷却塔No.2				360万
	冷却塔No.1	ふきとり	未実施	陰性	未実施
	冷却塔No.2				
7月19日	殺菌洗浄剤による化学的洗浄				
7月23日	清掃業者による冷却塔本体の物理的清掃				
7月28日	7月5日の採水検体と同じ	採水	未実施	陰性	不検出(※)
7月28日	7月5日のふきとり検体と同じ	ふきとり	未実施	陰性	

※ 検出限界以下(10CFU/100mL未満)

ことも発生要因の1つと考えられた。

(2) 複合型冷却水処理剤への過信

複合型冷却水処理剤を投与していたため、冷却水の汚れを確認しても清掃をしていなかった。しかし、冷却水の検体採取時には、冷却塔内部水槽に生物膜と思われるぬめりが存在していたことから、レジオネラ属菌が繁殖しやすい環境が形成され、生物膜により処理剤が効きにくい状態になっていたと考えられた。

(3) 汚染された冷却水の飛散

冷却塔の取扱説明書には、冷却水が送風機によって空気とともに放出される水滴の量と、ルーバから外部へ飛散する水によって損失する水量の和は、循環水量の約0.1%であると記載があり、計算上、1日当たり最大で約5,760Lの水が損失・飛散していたものと推測された。

飛散していた水量も多く、冷却水は高濃度のレジオネラ属菌に汚染されていたことから、エアロゾルを吸入した高齢者等の易感染性者を中心にレジオネラ症を発症したと考えられた。新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 感染防止のために窓を開けて換気をした際にエアロゾルが病室に入ったことや、外気取り込み口から病院全体にレジオネラ属菌の汚染が広がった可能性がある。

(4) 外調機の中性能フィルターをエアロゾルが通過していた可能性

病院で使われていた外調機のフィルターは、JIS規格で中位径が1.6-2.3 μm の粒子を65%以上捕集できるとされるものを使用していた(細菌の大きさは1 μm 程度で、例えばレジオネラ検査が目的のフィルター濃縮には孔径0.2 μm が用いられる)。よって、試験粒子と同等またはそれ以下の粒子径のエアロゾルは外調機のフィルターを通過し、病院内へ拡散した可能性がある。

5. まとめ

本事例は、冷却水中でレジオネラ属菌が大量に増殖し、冷却塔の稼働により拡散したことに起因するものと考えられた。増殖した原因としては、冷却塔稼働前の清掃が不十分であったこと、複合型冷却水処理剤の効果を過信し冷却塔の稼働中に汚れを確認しても清掃しなかったこと、が挙げられる。対応として、物理的清掃による冷却塔本体のスケールや生物膜の除去の徹底に加え、殺菌洗浄剤の併用による化学的洗浄で、循環配管中の生物膜の除去およびレジオネラ属菌の殺菌を行ったことで、レジオネラ属菌を除去することができた。

同様の事例を防止するためには、冷却塔の稼働開始前、稼働終了後に物理的清掃および化学的洗浄を徹底すること、稼働中は殺菌剤を投与し、汚れの確認・清掃や、レジオネラ属菌の水質検査を定期的に行うこと、が必要であると考えられた。

参考文献

1) 厚生労働省健康局生活衛生課, 建築物における維持管理マニュアルについて, 平成20(2008)年1月

25日 健衛発第0125001号

- 2) 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, 平成29(2017)年7月
- 3) 厚生省生活衛生局企画課, 建築物等におけるレジオネラ症防止対策について, 平成11(1999)年11月26日 生衛発第1679号
- 4) 厚生労働省医業・生活衛生局生活衛生課長通知, 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, 令和元(2019)年9月19日付 業生衛発0919第1号

宮城県北部保健福祉事務所

花鳥賊広人

宮城県保健環境センター微生物部

<特集関連情報>

冷却塔からの曝露が示唆されたレジオネラ症集積事例を経験して(第1報)

～疫学調査と施設対応について～

はじめに

当保健所管内の一定地域(曝露源と示唆された冷却塔を含む半径約1.5km以内)にて、例年を上回る、約1カ月間に20名のレジオネラ症患者の発生を経験した。当保健所は曝露源探索のため、積極的疫学調査を繰り返し行うとともに、詳細な地区踏査および施設調査等を行った。あわせて、速やかに患者から喀痰を、施設から採水検体を確保し、遺伝子解析を用いた曝露源のさらなる絞り込みを行った。第1報である本稿では本事例における疫学調査と施設対応を、第2報(本号10ページ)では検査対応および分子疫学的解析を報告する。

積極的疫学調査

患者の行動歴等には、全員に共通する利用施設等はなかった。また、2名が利用していた公衆浴場、遊泳場(採暖槽)から採水し検査したが、レジオネラ属菌は検出されず、維持管理状況にも問題はなかった。行動歴に共通項をみつけるため、複数患者が利用していた施設名等を織り交ぜながら外出をともなう行動歴を再度聞き取ったが、全員に共通する利用施設等はなかった。そこで、患者の自立度は高く、全員外出習慣があったことから、屋外曝露源等がないか地区踏査を行った。

地区踏査

患者が発生した地域の冷却塔、水景施設、ミスト発生機や工事現場等を踏査した結果、ミスト発生機は確認されず、水景施設は1施設確認したが、エアロゾルが飛散するような施設ではなかった。工事現場については、自然環境に近い状態であった。これらを踏まえ、感染リスクが高いと考えられる冷却塔等の人工環境を優先して調査を進めた。「建築物における衛生的環境の確保に関する法律」に基づく特定建築物の届出状況、航空写真、目視

による現場確認等から、当該地域には、20施設に冷却塔があると推定された。さらに調査を進めると、調査時点において使用が確認された冷却塔は12施設25基であった。

検査結果および冷却塔への調査・指導

25基から冷却塔水を採水し、9施設17基でレジオネラ属菌が検出され、最高検出菌数はA施設の屋上に設置されたB冷却塔で 1.9×10^5 CFU/100mLであった。これら9施設の冷却塔管理者に感染リスクを説明し、直ちに清掃・消毒を指導した。

パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) の結果、B冷却塔由来株が、喀痰培養陽性8名の分離株と類似度90%以上を示した。sequence-based typing (SBT) の結果、当該冷却塔由来株と7名の患者由来株の遺伝子型は一致し、残り1名は1遺伝子領域を除いて一致した(本号10ページ第2報参照)。以上より、B冷却塔が本事案の曝露源と推定され、施設管理者にさらに徹底した清掃・消毒を再度指導した。その結果、消毒等後の再検査では、B冷却塔は陰性に、その他の冷却塔のレジオネラ属菌数は指針値未満となった。レジオネラ症の潜伏期間(2~10日)等を総合的に勘案し、B冷却塔の清掃・消毒後14日以降に新たな患者の発生がないことを確認したうえで、終息とした。

B冷却塔の維持管理状況について

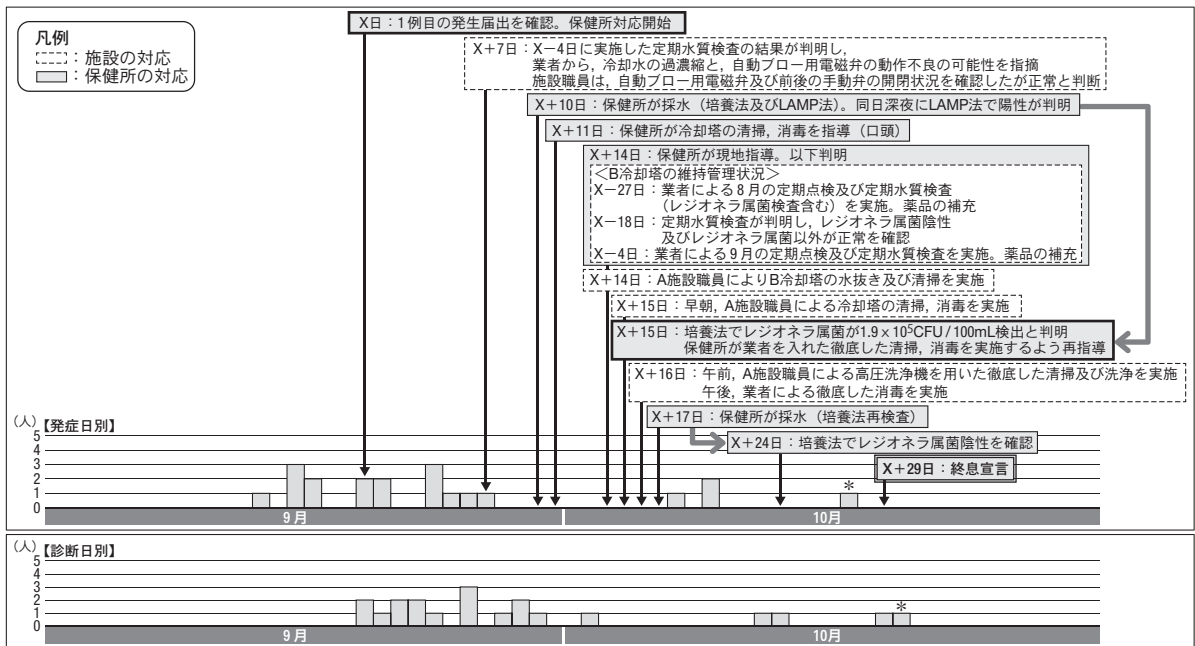
B冷却塔は開放式の直交流型(角型)で、用途は空調用、冷却塔水量は約340m³/時、運転期間(運転時間)は5~10月(9~21時)のほぼ毎日稼働、補給水は水道水を使用していた。維持管理状況は、冷却塔水に複合処理薬剤の常時注入や、年1回使用開始前に冷却塔の清掃とレジオネラ属菌検査を実施、月1回定期

点検で、冷却塔水の電気伝導率等の維持管理項目の水質検査を実施、日に1回日常点検で、稼働状況、破損状況、薬品残量を確認していた。

図に示すように、X-27日の定期点検では冷却塔に異常はなく、X-18日に判明した水質検査結果はレジオネラ属菌が陰性であった。X-4日の定期水質検査にて冷却塔水で電気伝導率が管理目標値の2倍を超過する値であったことが、X+7日に判明した。超過した理由として、電気伝導率を感知し、自動で給排水を行う自動ブロー用の電磁弁の動作不良等による可能性が、水質検査機関から指摘されていた。後日、電磁弁が一時的に固着していたことが判明した。

考察

冷却塔は、冷凍機等で発生した熱を、冷却塔水を介して大気へ放出する設備である。冷却塔水は熱を放出する際に一部蒸発し、徐々に水中の塩類が濃縮され、微生物の発育に好適な条件が整うことがある。そのため、レジオネラ属菌が増殖する要因となり得る。曝露源と推定されたB冷却塔は、冷却塔水が過濃縮し、水質等が悪化していたこと、レジオネラ属菌対策としての薬剤を常時添加していたが、過濃縮した冷却塔水には薬剤効果が低下していたこと、前年よりも気温が高い気象条件等、レジオネラ属菌が増殖したと思慮された。また、B冷却塔は屋上の端部に設置されており、風を遮る物がなく冷却塔水を拡散し得る状態であった。日常点検、定期点検、年1回の清掃等の維持管理を実施していたが、機械の動作不良を指摘された時点で、強制ブローなどの水質改善や原因探索が十分にされなかったことがレジオネラ属菌の増殖・拡散に繋がったと考



*20例目の患者。当該患者の喀痰は培養陰性であったため、これ以上の究明はできなかった
 患者とA施設に明らかな接点もなく、発症日や消毒・陰性確認状況等、総合的にみて本事例と20例目との関連性は低いと考えられた
 【注釈】第4版レジオネラ症防止指針に基づき、一般的な人工環境水のレジオネラ属菌の指針値は100CFU/100mL未満(10CFU/100mL未満は陰性)とする

図. B冷却塔への対応経過と管内レジオネラ症報告数: 発症日別(上段)、診断日別(下段)

察された。後日、これらについて管理者から改善計画書の提出があり、冷却塔管理の見直しに繋がった。

結語

レジオネラ症患者の複数発生について、当初感染源不明であったが、分子疫学的解析の結果から、曝露源の可能性のある施設として冷却塔1基に絞り込むことができた。関係専門職が協働した疫学調査と地区踏査による曝露源の推定や指導等により、早期に終息することができた。本事例より以下の知見が得られた。患者の自立度が高く、外出習慣がある患者が集積している場合は、屋外での曝露を視野に入れる必要がある。特定建築物の空調用冷却塔に限り、届出ならびに点検・清掃の維持管理基準はあるものの、レジオネラ属菌の水質検査は法律上規定されていない。それ以外の冷却塔は、設置に関し法的な届出もないため所在把握が難しく、その管理も施設側の自主性に任せられている。今後、届出対象施設の拡大や管理基準項目の拡充等、制度強化に向けた検討を期待したい。

謝辞：患者調査等に御協力をいただきました医療機関の皆様に感謝申し上げます。また、本事例の対応にあたり、専門的助言を賜りました地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所 柿本健作氏をはじめとする関係各課の皆様に深謝いたします。

大阪府茨木保健所

小林慶吾 井上靖彦 尾沼大輔

板東知子 島野元伸 福村和美

山内一寛 西田伸子 木下 優

大阪府健康医療部

杉山真理子 宮内留美 永井仁美

<特集関連情報>

冷却塔からの曝露が示唆されたレジオネラ症集積事例を経験して(第2報)

～検査対応および分子疫学的解析について～

はじめに

管内の一定地域の住民に短期間にレジオネラ症患者が複数発生した(本号8ページ第1報参照)。本稿では、曝露源探索のために実施したレジオネラ属菌の培養検査・迅速検査および分離菌株の分子疫学的解析〔パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)およびsequence-based typing (SBT)]の結果を報告する。

対象と方法

レジオネラ属菌の分離培養・同定および迅速検査

患者喀痰20検体および人工環境水17施設35検体(府内公衆浴場から4施設9検体、遊泳場から1施設1検体、冷却塔から12施設25検体)を検査に供した。

患者喀痰からのレジオネラ属菌の分離培養は、病原体検出マニュアル「レジオネラ症」¹⁾に準じて実施し、レジオネラ免疫血清「生研」(デンカ)を用いて同定し

た。人工環境水からのレジオネラ属菌の分離培養は、第4版レジオネラ症防止指針および公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法²⁾に準じ、ろ過濃縮法にて実施した。試料は、熱処理および酸処理をそれぞれ行い、冷却塔水については、非濃縮試料も並行して行った。また、レジオネラ属菌の迅速検査は、100倍濃縮試料2mLを試料としてLoopampレジオネラ検出試薬キットE(栄研化学:LAMP法)で行った。レジオネラ属菌の血清群の同定には、レジオネララテックスキット(Oxoid)を用いた。

解析対象株のスクリーニングとPFGE

患者由来株および冷却塔由来株のPFGEは、病原体検出マニュアル¹⁾に準じて実施した。冷却塔由来株については、分離条件を基に代表株を選び、*mompS*遺伝子の一部領域の塩基配列を比較することでスクリーニングを行い、解析対象株を絞り込んだ。具体的には、分離条件に偏りがないよう選んだ代表株のうち、患者由来株の*mompS*遺伝子の一部領域と塩基配列が一致した、あるいは1-2塩基が異なる株を解析対象株として、1施設につき上限3株を絞り込み、PFGEに供した。泳動像はBioNumerics v6.6 (Applied Maths)で解析した。

SBT

分離菌株のSBTは、病原体検出マニュアル¹⁾に準じて実施した。遺伝子型はレジオネラ・レファレンスセンターより提供のSBT検索ツールを用いて決定した。

結果・考察

患者喀痰20検体中8検体から*Legionella pneumophila*血清群1(以下、SG1)が分離された。なお、入院日(治療開始前)の採痰者は11名(陽性7名)、治療開始後は9名(陽性1名)であった。感染源の解明には患者分離株と環境分離株との比較が必要であることから、治療開始前の採痰は重要である。

公衆浴場および遊泳場からの10検体はすべてLAMP法、培養法いずれも陰性であった。冷却塔水検体では、LAMP法で陽性は19検体、陰性は5検体、判定不可が1検体であった。培養法では、17検体からレジオネラ属菌が検出され、8検体は陰性であった。検出菌数は、 $1.0 \times 10^1 \sim 1.0 \times 10^2$ CFU/100 mL未満が3検体、 $1.0 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^4$ CFU/100 mL未満が7検体、 1.0×10^4 CFU/100 mL以上が7検体で、最高検出菌数は 1.9×10^5 CFU/100 mLであった。また7施設10検体から*L. pneumophila* SG1が分離された。

分子疫学的解析結果

PFGEの結果、患者由来株8株とB冷却塔由来株3株の泳動像が、類似度90%以上を示した(次ページ図)。SBTの結果、患者由来株7株とB冷却塔由来株の遺伝子型(*flaA*: 2, *pilE*: 10, *asd*: 18, *mip*: 15, *mompS*: 25, *proA*: 5, *neuA*: 6)が一致した。患者由来株1株(患者5)については、1遺伝子領域(*flaA*: 1)を除いて一致した。なお、該当するsequence typeの登録はなかった。

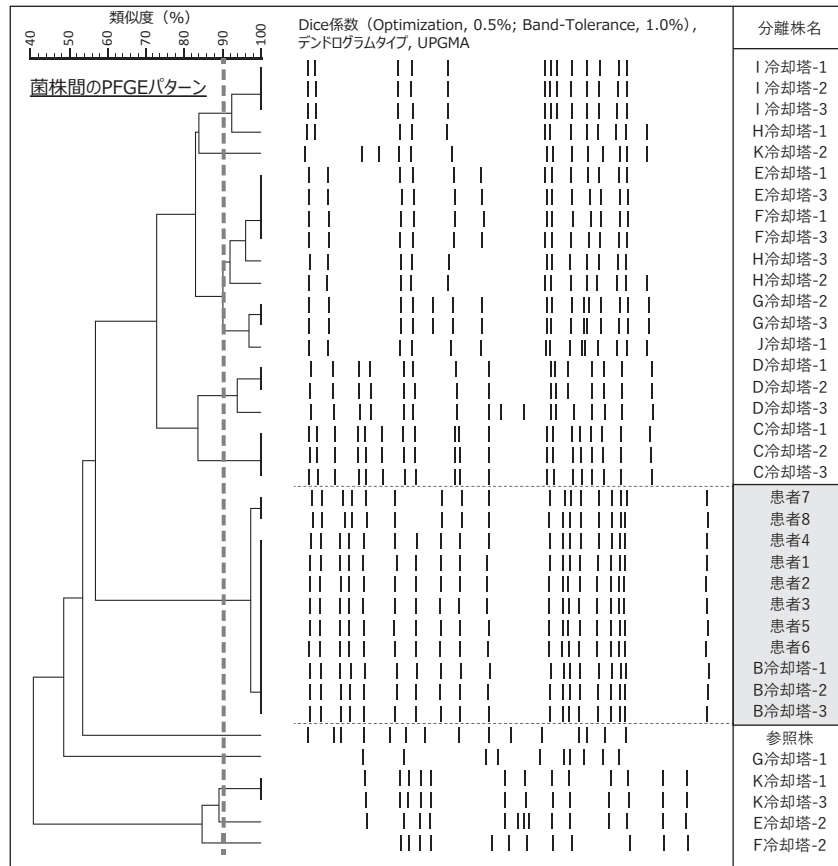


図. 患者および冷却塔水検体から分離された*L. pneumophila* SG1のPFGEパターン

本事例では、患者喀痰および冷却塔水からレジオネラ属菌を分離・同定し、分離菌株の分子疫学的解析結果から、曝露源として推定される施設を絞り込むことができた。

今回、培養検査とLAMP法を同時に実施したことで、施設への指導を早く行うことができた。また、曝露源探索を急ぐ中、多くの冷却塔水検体から複数株の*L. pneumophila* SG1が分離され、菌株間の遺伝的関連性を効率よく調べる必要が生じた。そのため*mompS*遺伝子の一部領域の配列情報を用いたスクリーニングを行い、解析対象株を絞り込み、PFGEによる分子疫学的解析を実施した。これらにより、早期の終息に貢献することができた。

謝辞：患者調査等に御協力をいただきました医療機関の皆様へ感謝申し上げます。また、本事例の対応にあたり、専門的助言を賜りました地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所 枝川亜希子氏をはじめとする関係各課の皆様へ深謝いたします。

参考文献

- 1) 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 (2020) 年9月1日改訂
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Legionella20200904.pdf>
- 2) 厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長通知, 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, 令和元 (2019) 年9月19日付 薬生衛発0919第1号

大阪府茨木保健所

高田利香 庄司裕郁 西田伸子

木下 優

地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所

高橋佑介 平井佑治 山本香織

山口貴弘

大阪府健康医療部

永井仁美

<特集関連情報>

尿中抗原検査により診断した*Legionella longbeachae*によるレジオネラ肺炎の1例

はじめに

腐葉土が主な感染源とされる*Legionella longbeachae*によるレジオネラ症は、本邦においては稀である。本菌による症例の多くは培養法やPCR法により診断されるが、2022年神戸市における事例では、尿中レジオネラ抗原検査〔リボテスト®レジオネラ (極東製薬工業)〕により診断された¹⁾。患者喀痰の培養によって、用いた3種の選択分離培地のうちMWY培地のみから*L. longbeachae* serogroup 1を分離した。また同菌は、患者が潜伏期間に水やりを行っていた公園の花壇の土からも分離された。本事例の患者株を用いて、リボテスト®レジオネラに対する反応性および各選択分離培地における発

育性の違いを検証した。さらに、感染源調査によって分離された土壌由来株との同一性を全ゲノム解析により調べたので報告する。

方法

リボテスト®レジオネラに対する反応性評価は、 10^9 CFU/mLに調整した菌液と、その10倍・100倍希釈液を用いて、キット添付文書にしたがい実施した。試験当たりの抗原濃度としては、 10^8 CFU/test、 10^7 CFU/test、 10^6 CFU/testに相当する。菌株の発育性の違いはMiles and Misra法により、選択培地であるGVPC培地（関東化学）、MWY培地（関東化学）、WYO α 培地（栄研化学）、非選択分離培地であるBCYE α 培地（関東化学）に対して評価した。土壌由来株は、潜伏期間中に患者が水やりを行っていた花壇の土から、アメーバ共培養法により分離した。菌株間の関連性を調べるために、MiSeq (Illumina) を用いて全ゲノム配列を取得した。*L. longbeachae* NSW150株 (Accession no.: NC_013861.1) をリファレンスとして、Leeらの方法²⁾を基にsingle-nucleotide variant (SNV) 解析を実施した。

結果・考察

抗原濃度 10^7 CFU/test以上でリボテスト®レジオネ

ラ陽性となり（図1）、四宮らの報告³⁾と同程度の検出感度であった。したがって、診断時の患者尿中には 10^7 CFU/test以上の抗原が含まれていたと推定された。抗原濃度 10^3 CFU/test以上で陽性になる*L. pneumophila*と比較すると、*L. longbeachae*の検出感度は著しく劣るが、リボテスト®レジオネラでの診断も可能となることが示唆された。

選択分離培地における発育性は、MWY培地、GVPC培地、WYO α 培地の順に良かった（図2）。各培地に含まれる選択剤の種類や量の違いが、*L. longbeachae*の発育に影響を与えている可能性があり、*L. longbeachae*によるレジオネラ症を疑う際には、適した培地を使用する必要があると考えられた。

全ゲノムによるSNVs解析により患者由来株と土壌由来株間のSNVsは約400個であったことから、明確な遺伝的関連性は認められなかった。届出から2カ月後に環境調査を実施したため、患者が感染した土壌環境とは異なっていた可能性も考えられた。

本症例は、本邦では稀な*L. longbeachae*によるレジオネラ症の診断・検査・分子疫学的解析に関する基礎データであり、今後さらなる知見の蓄積が求められる。

参考文献

- 1) 池成拓哉ら, 日本臨床微生物学会雑誌 34: 214-221, 2024
- 2) Lee K, et al., Emerg Infect Dis 27: 1509-1512, 2021
- 3) Shinomiya S, et al., Ther Adv Infect Dis 10: 1-5, 2023

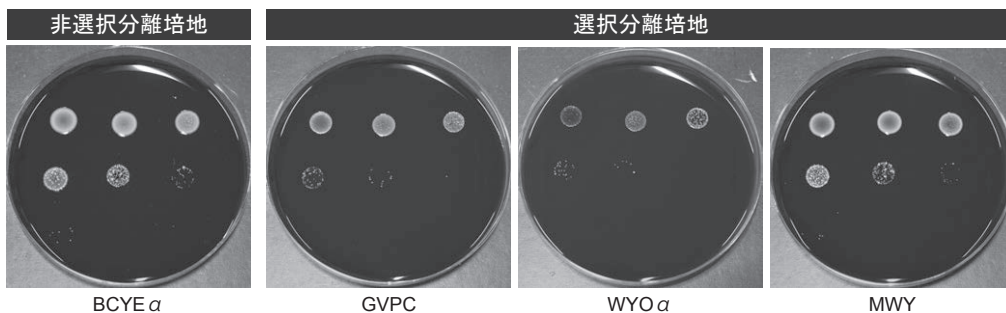
神戸市健康科学研究所感染症部
小松頌子 田中 忍 中西典子
神戸市立西神戸医療センター
池成拓哉 池町真実 徳重康介
多田公英 二村絢子 大戸美穂
中野菜生 小池千裕 竹川啓史
神戸市立医療センター西市民病院
松岡 佑



(参考文献1の改変)

供試菌液濃度は上から順に、 10^8 CFU/test、 10^7 CFU/test、 10^6 CFU/test

図1. 患者株を用いた3段階の菌液濃度に対するリボテスト®レジオネラの反応性



10^8 CFU/mL: 上段左、 10^7 CFU/mL: 上段中央、 10^6 CFU/mL: 上段右、
 10^5 CFU/mL: 中段左、 10^4 CFU/mL: 中段中央、 10^3 CFU/mL: 中段右、
 10^2 CFU/mL: 下段左、 10^1 CFU/mL: 下段中央、 10^0 CFU/mL: 下段右

(参考文献1の改変)

図2. 患者株を用いたMiles and Misra法による各選択分離培地における発育性評価

<特集関連情報>

オランダにおける廃水処理施設が感染源と特定されたレジオネラ症の集団発生事例

冷却塔、建物の給水システム、入浴施設等に加え、近年、レジオネラ症 (LD) の集団発生の原因として廃水処理施設 (WWTP) が特定されるようになってきた。本稿では、疫学調査、レジオネラ菌の全ゲノムシーケンス、症例数、人口密度、距離を考慮した空間的発生源特定モデル (spatial source identification and wind direction model) と、風速と潜伏期間を考慮した風向モデル (wind direction model) の統計モデルにより、2つの廃水処理施設を感染源と特定したオランダの事例の報告を抄訳し紹介する。

2022年9月19~28日、ユトレヒト市保健局 (MHS) に5例のLD患者が報告された。過去5年間、当該地域でLD患者の報告はなく、エアロゾルに曝露された可能性が高いと報告された症例もなかったため、9月30日に感染源の特定と管理対策の実施を目的としたアウトブレイク調査が開始された。

本事例の症例定義は、肺炎と診断され、かつ細菌学的検査の結果が欧州基準のLDの疑い例もしくは確定例を満たすもので、2022年9月1日以降に発症したハウテン市内またはハウテン市から5km以内に居住する者、または潜伏期間内にハウテン市を訪れた者で、他の感染源が明らかでない患者、を確定例、*L. pneumophila* SG1-6抗体の1回のみの高値を可能性例とした。その結果、15例が症例定義に合致し、3例が喀痰培養陽性となった。喀痰検体からは *Legionella pneumophila* 血清群1 (SG1) sequence type (ST) 82が2症例から、*L. pneumophila* SG1 ST42が1症例から検出された。

環境調査では、産業廃水処理施設 [industrial WWTP (iWWTP)] と自治体廃水処理施設 [municipal WWTP (mWWTP)] の両方からレジオネラ属菌が検出され、それぞれ2,000万CFU/L、1,000万CFU/Lと高濃度であった。iWWTPとmWWTPの両方から *L. pneumophila* SG1, ST2678が検出され、cgMLST (core genome multilocus sequence typing, 1,521 locusを標的とし、STの7標的より解像度が高い) も同一であったが、臨床分離株の型別とは不一致であった。iWWTP内にはmWWTP内よりもレジオネラ属菌の増殖に適した、温かく栄養に富んだ水があり、iWWTPはmWWTPに処理水を排出していたので、iWWTPがmWWTPの汚染源であったかもしれない。

mWWTPの別の2検体から *L. pneumophila* SG1 ST42が検出され、患者1症例のタイピング結果と一致した。この結果はcgMLSTで裏付けられた。空間的発生源同定モデルでは、発生源となりうる場所からの距離が遠くなると、LD発生率が減少するかが検討され、最も可能性の高い発生源として、ハウテン市の南西に位置するiWWTP、mWWTP、廃棄物処理会社の3つが挙げ

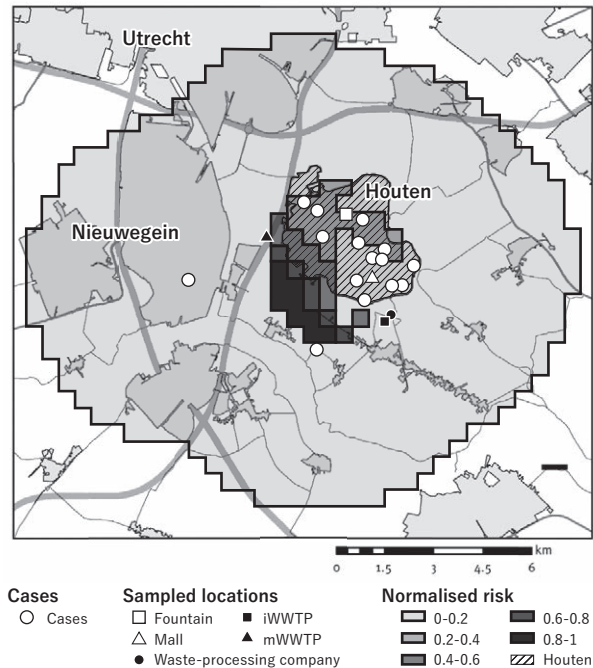


図1. レジオネラ症確定例および疑い例の居住地に基づくレジオネラ症リスクの正規化マップ (オランダハウテン市, 2022年9~10月 (n=15)) 出典より引用

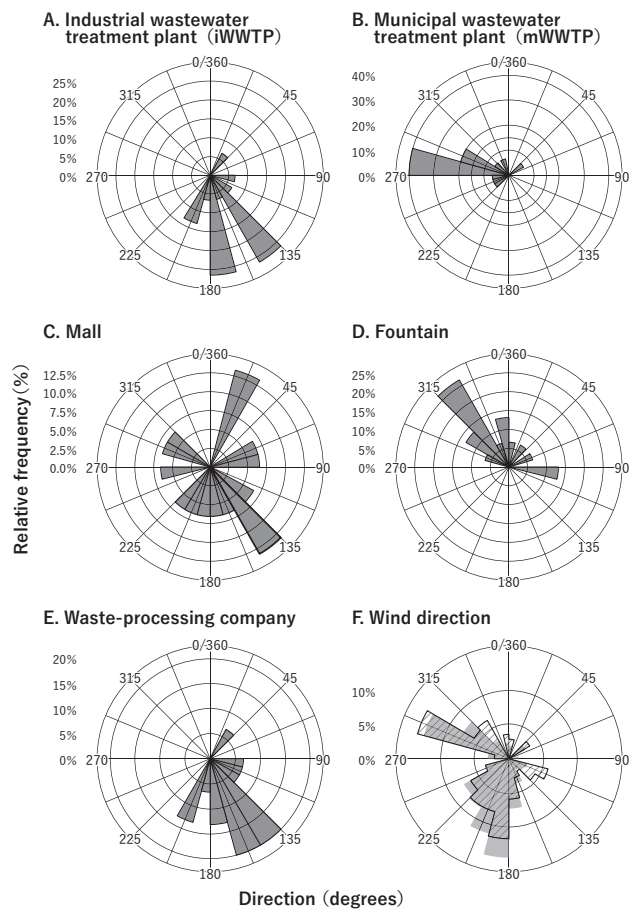


図2. レジオネラ症患者の居住地から感染源となりうる場所の方向を示したローズプロット (オランダハウテン市, 2022年9~10月 (n=15)) 出典より引用

られた(前ページ図1)。風向モデルでは、風上方向が発生源となりうる場所の方向と相関するかが検討され、発生期間中の主な風向は南/南西/西であり、mWWTPは風上方向と最も一致していた(前ページ図2)。

WWTPでのレジオネラの検出と、空間的発生源同定モデルの結果に基づき、WWTPの一部の曝気槽を停止するなど、エアゾルの発生を防ぐための管理対策が実施された。2022年10月14日に管理対策がとられた後、最大潜伏期間である14日を経過した後もそれ以上の症例は発生しなかった。この事例では、疫学調査と微生物学的検査結果、および統計的モデリングなどの学際的な調査を実施したことにより、LDの感染源としてあまり知られていない対象を特定し、管理対策を実施した結果、アウトブレイクは終息した。WWTPがLDの集団発生を引き起こす可能性が示唆され、公衆衛生の専門家は潜在的な発生源のひとつとして認識しておく必要がある。

出典

Roan P, *et al.*, Euro Surveill 29: 2300506, 2024
<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2024.29.20.2300506>

抄訳担当: 国立感染症研究所

実地疫学専門家養成コース 北岡政美

実地疫学研究センター 島田智恵 砂川富正

<特集関連情報>

浴槽水のモノクロラミン消毒, 2024年時点

公衆浴場でレジオネラ集団感染が生じて、水泳プールにならって遊離塩素消毒が導入され、大規模な集団感染は防がれるようになった。それでもなお、高pH(8以上)で消毒効果が不足したり、塩素臭を敬遠して管理が不徹底になるなどがあり、いまだにレジオネラ感染の事故が浴場で生じることがある。この問題を緩和する方法として、水道法施行規則第17条に記載されている結合塩素(モノクロラミン)に着目・応用したところ、浴場の消毒不足や塩素臭の回避が可能になった。モノクロラミンは、次亜塩素酸ナトリウムとアンモニアの反応により現場で生成、浴槽水に添加されて、およそ3mg/Lの濃度で維持される。ここまでは先の特集関連情報の通りである(IASR 34: 168-169, 2013)。

モノクロラミン消毒は、高pHに限らず、人工炭酸泉などの、pH5まで応用が可能であった。それより低いpHでは、遊離塩素でもそうだが、塩素ガスが生じる恐れがあり、注意が必要である(いわゆる、混ぜるな危険)。遊離塩素に比べてモノクロラミンは酸化力が低く、鉄やマンガンの析出が抑えられる。有機物、アンモニアを含む浴槽水、薬湯等は遊離塩素を消費する成分が多く含まれ、また、浴槽水の外観に影響が出る可能性もある。具体的には、遊離塩素消毒では塩素が消費されたり、薬湯の色が消える等の問題が生じる。一方、モノクロラミン消毒では

塩素濃度の変動や薬湯の脱色が生じにくい。一連の成果は、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)「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」他により、多数の関係者の協力により得られた。

モノクロラミン消毒の効果は繰り返し確認され、浴槽水からレジオネラが培養で検出されるといった問題は生じていない¹⁻³⁾。ただし、モノクロラミンは消毒方法の1つであって、洗浄を省略するための方法ではなく、定期的な洗浄等の衛生管理が大事であることには変わりはないことを強調しておく。

モノクロラミンの使用は、厚生労働省の通知「公衆浴場における衛生等管理要領等について〔令和元(2019)年9月19日生食発0919第8号〕」他への追記を通じて、多くの自治体条例等に反映されつつあり、普及は順調といえる。

参考文献

- 1) 杉山寛治ら, 日本防菌防黴学会誌 45: 295-300, 2017
- 2) 森 康則ら, 温泉科学 (J Hot Spring Sci) 69: 90-102, 2019
- 3) 柳本恵太ら, 日本防菌防黴学会誌 49: 261-267, 2021

山梨県衛生環境研究所

柳本恵太

三重県保健環境研究所

森 康則

長崎県環境保健研究センター

田栗利紹

静岡県環境衛生科学研究所

長岡宏美

(株) マルマ研究開発部

杉山寛治

アクアス(株) つくば総合研究所

縣 邦雄

ケイアイ化成(株) 機能性薬品部

市村祐二

健美薬湯(株)

藤井 明

花王(株)

山本哲司

国立保健医療科学院生活環境研究部

小坂浩司

国立感染症研究所

細菌第一部 前川純子

寄生動物部 泉山信司

<特集関連情報>

レジオネラ外部精度管理の現状

レジオネラの培養検査は、公衆浴場等を行政指導する根拠や衛生管理を行ううえでの重要なデータであることから、高い精度が求められる。培養法は「試料水の濃縮」、「夾雑菌を抑制するための前処理」、「選択培地

表. 日本国内から参加可能なレジオネラ外部精度管理の概要

名称	EQA (The external quality assessment legionella isolation scheme)	FAPAS® (<i>Legionella</i> spp. in Environmental Water Proficiency Test)	(参考) レジオネラ属菌検査 精度管理サーベイ
実施者	UKHSA (UK Health Security Agency) 英国健康安全保障庁	Fera (The Food and Environment Research Agency) 独立行政法人英国食料環境研究庁 (英国環境食料農村地域省傘下)	島津ダイアグノスティクス 株式会社
各検査施設の検査方法で参加	○	○	指定法*
検査方法	日常的に行っている各施設の方法	日常的に行っている各施設の方法 非選択培地を用いる (選択培地で参加も可)	前処理(酸・熱)なし 非選択培地を15枚用いる
国	英国	英国	日本
日本からの参加実績	あり 1998年～	あり 2022年～	2016年～
参加者数	約150 (年間4回、1回あたり)	約20 (年間4回、1回あたり)	約100 (年間1回)
令和6 (2024) 年度 参加費 (1回あたり)	55,000円 (税抜) 〔年間4回参加の場合は、 50,000円 (税抜) / 回あたり〕	56,000円 (税抜)	未定 〔令和5 (2023) 年度37,000円 (税抜)〕
1回あたりの配付試料数	2	2	1
Zスコア良好範囲外の場合の 再試験・価格	あり 7,000円 (税抜) + 送料	なし	なし
国内代理店の有無	あり (アイデックスラボラトリーズ株式会社)	あり (株式会社セントラル科学貿易)	
配付試料の輸送	常温	常温	冷凍
検査実施までの保管	冷凍	冷蔵	冷凍
配付試料中の レジオネラ以外の細菌の混合	あり	なし	なし
配付試料中に含まれる レジオネラの菌種数	1～2種	1～2種	1種 (<i>L. pneumophila</i>)
レジオネラが含まれないブランク 試料が配付される可能性	あり	あり	なし
配付試料の形状	LENTICULE disc ゼラチン状のディスク	Lyophilized sample フリーズドライ様	BioBall フリーズドライ
検査結果の報告	菌数および菌種 (血清群) 菌数のみの報告も可	菌数および菌種 (血清群) 菌数のみの報告も可	菌数
解析方法	Zスコア	Zスコア	回収率、Zスコア
Zスコア解析に用いる 標準偏差の値	0.55	0.55	0.25

*培養検査の工程の一部、濃縮と培地接種操作などの手技の精度確認に主眼を置いた内容となっている

への接種」の主に3工程で実施する定量試験である。これらの工程には複数の方法が示されており、濃縮はろ過濃縮法または遠心濃縮法、前処理は酸または熱処理、使用培地はGVPCやWYO他がある。それぞれの工程で選択肢があることは、試料の水質を考慮して適した検査方法を選択できるという利点がある一方で、一連の操作が検査精度に反映されるため、各検査機関の結果にばらつきが生じる要因となっている。そのため、多くの検査機関は外部精度管理に参加して、検査技術の評価を受けている。本稿では、レジオネラ外部精度管理の現状や概要について解説する。

外部精度管理の実際は、外部で用意された模擬試料を各施設の標準作業手順書にしたがって検査して、自他施設の結果を比較する。現在、参加可能な外部精度管理は、「英国健康安全保障庁 (UK Health Security Agency: UKHSA) の External Quality Assessment (EQA)」および「英国食料環境研究庁 (The Food and Environment Research Agency: Fera) の Food Analysis Performance Assessment Scheme (FAPAS®)」の2種がある (表)。国内実施中の島津ダイアグノスティクス (株) のレジオネラ属菌検査

精度管理サーベイは、検査法が指定されており、工程の一部、濃縮と培地接種操作などの手技の精度確認に主眼を置いた内容となっている。

英国2種の外部精度管理は、いずれも25年以上の歴史があり、英国だけではなく全世界を対象としている。全体の手順は、配付された試料を用いて指示書通りに試料水を作製し、日常的に行っている方法で検査して結果 (菌数・菌種) を報告する。集計された報告値は解析後、レポートとして参加者にフィードバックされる。レポートにはZスコアが示され、±2以内が良好範囲と判定される。なお、いずれも菌数のみの報告でも参加可能である。

(1) UKHSA のEQA legionella isolation scheme (以下、UKHSA) は、試料の作製、配付から結果の解析などのすべてを自前で行っている。欧州を中心に150以上の検査機関が参加しており、日本国内からは民間検査機関を中心に参加実績がある。2023年度には後述のレジオネラ研究班からUKHSAへ試験的に参加し、地方衛生研究所 (地衛研) での事務手続きなどを含めて確認した¹⁾。2024年度には、研究班の支援により地衛研55機関が参加予定である。配付試料には、培地上で

レジオネラ様のコロニー形状を示すレジオネラ属菌以外の細菌も含まれており、環境水試料に非常に近い実践的な内容である。レポートの発行前に、速報として試料に含まれていた菌種や菌数の通知が届く。また、Zスコアが良好範囲外の場合は、再試験が用意されており、希望者は受検できる。年4回の実施があり、1回当たりの参加機関数は約150である。

(2) FeraのFAPAS[®] *Legionella* spp. in Environmental Water Proficiency Test (以下、FAPAS[®]) は、試料作製は外部委託だが、配付から結果の解析などは自前でやっている。Feraが実施する外部精度管理では、食品分析を中心に世界4,500以上の検査機関が参加しているが、レジオネラについては日本からの参加実績がなかったため、2022年度に研究班から試験的に参加した²⁾。内容や事務手続きを含めて問題はなかったことから、2023年度には研究班の支援により地衛研55機関が参加し、96%の機関が良好範囲内の結果であった。配付試料にはレジオネラのみが含まれており、レジオネラ以外の細菌は含まれない。年4回の実施があり、1回当たりの参加機関数は約20である。

UKHSAには、1998年から民間検査機関を中心に国内参加実績があり、有用であることが示されてきた³⁾。しかし、国内代理店がないため、英語での手続きや事務的負担が大きいという課題があること、さらには、行政機関の多くは海外送金不可のため参加ができない状況であった。研究班では、これら課題の解消を関係者に要請して、2024年度より国内代理店を通じた参加手続きが開始されるに至った。これにより、すでに国内代理店のあるFAPAS[®]に加えUKHSAについても容易に参加可能になっている(日本語サポートあり)。レジオネラ検査機関は、それぞれに適した内容の外部精度管理を選択・活用していただければ幸甚である。

本研究は、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)「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」(JPMH22LA1008)により実施した。

参考文献

- 1) 枝川亜希子ら, 厚生労働科学研究費補助金 令和5(2023)年度総括・分担研究報告書: 158-166, 2023
- 2) 枝川亜希子ら, 厚生労働科学研究費補助金 令和4(2022)年度総括・分担研究報告書: 112-120, 2022
- 3) 井上浩章, ビルと環境 161: 43-50, 2018

大阪健康安全基盤研究所衛生化学部

枝川亜希子 小池真生子

アクアス(株)つくば総合研究所

井上浩章 縣 邦雄

(公財)日本建築衛生管理教育センター
調査研究部

杉山順一 安齋博文

国立感染症研究所

細菌第一部 前川純子

寄生動物部 泉山信司

<特集関連情報>

環境水における遺伝子検査の活用について

浴槽水などの環境水を対象としたレジオネラ属菌検査は、検水をフィルターろ過または遠心濃縮後に、一定量を選択分離培地に塗布する平板培養法が広く普及している。この培養の方法では、レジオネラ属菌の発育が遅いため、結果が判明するまでに約1~2週間を要する。一方、遺伝子検査法は、検査試料中のレジオネラの遺伝子(DNA)を定性的あるいは定量的に直接検出するもので、早ければ2~3時間、遅くても翌日には結果が判明する。実際、入浴設備の洗浄の効果確認などに活用されている。近年は、採水現場で直ちにDNAを測定するモバイルPCRも開発されつつあり、さらに短時間で結果が得られることが期待される。

現在、複数のレジオネラ属菌に特異的な遺伝子の検出試薬キットが市販されており、検査しやすい環境が整っている。通常の遺伝子検査法では、生菌由来DNAのみならず死菌由来DNAも検出するが、死菌由来DNAからの増幅を阻害するethidium monoazide試薬(EMA)を組み合わせた「生菌特異的な遺伝子検査法」の試薬も市販されている。本稿では、こうした市販の遺伝子検査法と、平板培養法との相関を、環境中の実試料で検討した結果¹⁾について紹介する。

qPCR法(quantitative PCR)

市販の検出試薬キット(タカラバイオ株式会社)を用いた場合、検査開始から結果判定まで2~3時間程度、平板培養法陽性検体の97%以上を検出できたが、平板培養法に対する特異度は46.6%と低く(次ページ表a)、死菌DNAを検出している可能性が考えられた。死菌の存在はレジオネラ汚染があることを意味しており、大事な結果といえるが、生菌の培養結果と異なるので好まれないことがある。陰性的中率は98%以上と高く、レジオネラ陰性の判定に有用であり、前述の入浴設備の洗浄効果の確認などの応用がある。

LC EMA-qPCR法(liquid culture ethidium monoazide-qPCR)

濃縮検体を液体培地(liquid culture)に添加して18時間の培養後、死菌DNAからの増幅を阻害するEMA処理を実施することで、続くqPCR反応では生菌由来のDNAを選択的に増幅させる、一連の試薬が販売されている(タカラバイオ株式会社)。この試薬を用いた結果として、平板培養法に対する感度は約90%、特異度および一致率は約80%となった(次ページ表b)。本法は、得られた菌数相当値と平板培養法の菌数の相関係数がqPCR法よりも高く(LC EMA-qPCR法: $r=0.81$, qPCR法: $r=0.50$)、つまり平板培養法の菌数に近い結果が得られる。

LAMP法(loop-mediated isothermal amplification)

qPCRは専用の高額な機器を必要とするが、そのよ

表. 環境水のレジオネラ属菌検査における遺伝子検査法と平板培養法との相関

a. qPCR法

		平板培養法 (CFU/100mL)		
		≥10	<10	計
qPCR	陽性	120	257	377
	陰性	3	224	227
計		123	481	604

感度97.6%、特異度46.6%、陽性的中率31.8%、陰性的中率98.7%、一致率57.0%

b. LC EMA-qPCR法

(定量値のカットオフ値を1 CFU/100mL相当とした場合)

		平板培養法 (CFU/100mL)		
		≥10	<10	計
LC EMA-qPCR	≥1	125	82	207
	<1	15	296	311
計		140	378	518

感度89.3%、特異度78.3%、陽性的中率60.4%、陰性的中率95.2%、一致率81.3%

c. LAMP法

		平板培養法 (CFU/100mL)		
		≥10	<10	計
LAMP	陽性	192	141	333
	陰性	39	483	522
計		231	624	855

感度83.1%、特異度77.4%、陽性的中率57.7%、陰性的中率92.5%、一致率78.9%

うな機器がなくても検査を可能とする、等温遺伝子増幅法 (LAMP法, 栄研化学株式会社) も整備されている。平板培養法に対する感度は83.1%と、qPCR法およびLC EMA-qPCR法よりやや低くても、特異度および一致率は80%近くであった (表c)。LAMP法はqPCR法と同様に、検査開始から2~3時間程度で結果が判明する。平板培養法に近い結果が得られる、迅速・簡便な遺伝子検査法として有用と考えられた。

遺伝子検査法を導入する際は、それぞれの方法の特性を理解したうえで、どのように利用するかを検討することが望ましい。具体的には、「清掃・消毒管理された検水におけるレジオネラ属菌の陰性を確認する場合」、「平板培養法と併用したスクリーニング検査として利用する場合」、「公衆浴場の水質基準に係る検査として、平板培養法に置き換えて実施する場合」、「レジオネラ症患者発生時における感染源追究のための検査の場合」など、様々な用途で利用できると考えられる。研究班の報告書²⁾ やwebページ (https://sites.google.com/view/legionella-resgr/test_main) にこうした活用例が記載されており、それらを参考にして、公衆浴場等の衛生管理に活かしていただければと期待する。本報告は、厚生労働科学研究の一環として実施した。

参考文献

- 1) 金谷潤一ら, 日本防菌防黴学会誌 48: 515-522, 2020
- 2) 金谷潤一ら, 厚生労働科学研究費補助金「公衆浴場におけるレジオネラ症対策に資する検査・消毒方法等の衛生管理手法の開発のための研究」令和2 (2020) 年度総括・分担研究報告書: 66-75, 2021

https://mhlw-grants.niph.go.jp/system/files/report_pdf/202027009A-buntan7.pdf

富山県衛生研究所

金谷潤一

宮城県仙南・仙塩広域水道事務所

山口友美

東京都健康安全研究センター

武藤千恵子

川崎市健康安全研究所

淀谷雄亮

宮前区役所地域みまもり支援センター

飯高順子

大分県衛生環境研究センター

佐々木麻里

長崎県環境保健研究センター

田栗利紹 蔡 国喜 川野みどり

国立感染症研究所

前川純子 泉山信司 倉 文明

＜特集関連情報＞

マルチプレックスPCRによる*Legionella pneumophila* 血清型別法について

レジオネラ症の感染症発生動向調査への届出の9割以上は尿中抗原検査陽性による。この場合、菌株は分離されないが、感染源の解明には環境、臨床からの菌株の分離、比較が不可欠である。2019年に血清群 (SG) 1以外の*Legionella pneumophila*の抗原も検出できる尿中抗原検出キットの販売が開始された。レジオネラ・レファレンスセンターで収集している臨床分離株は、以前は9割以上が*L. pneumophila* SG1であったが、2022年以降は、SG1以外の*L. pneumophila*がおよそ2割を占めるようになったことから、血清型別の重要性が増していると考えられる。

*L. pneumophila*は15血清群に分けられるが、血清群特異的配列プライマーを用いたマルチプレックスPCR (M-PCR) により、血清群をグループ分けする方法を開発した。このM-PCRは2段階からなり、1段階目のM-PCRで、SG1, SG2, SG3/15, SG5, SG6/12, SG7, SG8, SG9, SG11, SG13, SG14を増幅産物のアガロースゲル電気泳動のバンドサイズで判定ができる (SG3と15, SG6と12はゲノム配列上は区別できない)。いずれの血清群のバンドも得られなかった場合は、SG4/10プライマーを用いた2段階目のPCRを行い、バンドを確認する (バンドが得られた場合、SG4か10と判定される。SG4と10はゲノム配列上は区別できない)。供試菌株が*L. pneumophila*である場合には、1段階目か2段階目のいずれかで血清群特異的なバンドが確認できる。以上の血清群特異的プライマーに加えて、*Legionella*属特異的プライマーを併用することで、供試菌株が

表. マルチプレックスPCRによる血清型別で用いるプライマー配列*

Primer set	Target gene (Gene name)	Product size (bp)	Target SG (s)	Forward primer sequence (5'→3')	Reverse primer sequence (5'→3')
SGg1	sg1-25 (<i>srkA</i>)	249	SG1	AAACGCCTCTTGTCTGAACCAG	GTTGGGCATCTTCTTGATTAATCC
SGg2	sg2-37	543	SG2	AAACGAGGGTGACTAAGTGC	TATCAGGGGTAGCTGTTGGC
SGg3/15	sg3-48 / sg15-49	408	SG3 and SG15	GGAATTTGTAAAGCAAAGAAAACCAG	AGATGTTTTGATCGCTAAAATGCCT
SGg5	sg5-35	205	SG5	GAACCTATTCTTAATCCAGAGG	TAGACGCATTGCCAAACAAG
SGg6/12	sg12-57	698	SG6 and SG12	TTACTTGCCCATCTAAGTTACC	CTTCACTTCCTTGGACTGTGC
SGg7	sg7-30 (<i>dapA</i>)	835	SG7	TTAGTATTGAGAGGGTTGTC	TGTGTAGGGCTTACAAAAGTCC
SGg8	sg8-68	166	SG8	TGCTCACTCTATAGTTTATGATTGG	TAGTTTGACGATCAATTCCAGC
SGg9	sg9-29	634	SG9	TTATCTGGATTATCTTCACCTCG	GAATGGTATGAGAGAATCACTGG
SGg11	sg11-23 (<i>legI</i>)	314	SG11	ACATTACGGTAGTGGCAAAGG	TGTTTCGATTTACCTAACAAATGC
SGg13	sg13-37	461	SG13	ACCTTATGGT (A/C) TTGCAGATTC	CA (G/T) CC (A/C) TCATGATCACTTGG
SGg14	-	986	SG14 and ST23 ^{a)}	GTTTGGTTGATGCCAATAATCTCG	AGCCAGAATATAAGTCATTGTCCG
SGg4/10	sg4-40 / sg10-36 (<i>patA</i>)	235	SG4, SG10 and other SGs ^{b)}	AAACGAGATAAAGTCATATGCC	TACGCAAATACCGTCTTTAGC
<i>Legionella</i> genus	5S rRNA	108		GCGGACTATAGCG (A/G) TTTGGAA	GCGATGACCTACTTTC (A/G) CATGA

*前川純子, 中西典子, 小松頌子, 田中忍, 森中りえか: *Legionella pneumophila* 血清型別のためのmultiplex-PCR法の実施と改良. 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) 「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」令和4年度総括・分担研究報告書, 129-137, 2023

a) : SG14およびSG1のうち, ST23を検出する

b) : SG4, SG5, SG8, SG9, SG10, SG13, SG14, SGUT, SG7の一部, SG11の一部を検出する

Legionella 属菌であることを確認するとともに, PCR反応が正しく行われているかが確認できる。スライド凝集反応でいずれのレジオネラ免疫血清にも凝集せず, 型別不能と判定される *L. pneumophila* 菌株も M-PCR ではいずれかに分類される。免疫血清による群別と区別するため, PCRによる血清型別は, SGの後にgを加えて, SGg1のように記載する(表)。

日本と中国の臨床分離株, 環境分離株計238株(各血清群の菌株数は, 3-48株)について, M-PCRによる血清型別を行ったところ, デンカのレジオネラ免疫血清で群別できなかつた5株を除いて, すべて免疫血清による結果と一致した。免疫血清で群別できなかつた5株は, SGg4/10が3株, SGg6/12が1株, SGg8が1株であった¹⁾。小松らの報告によると, レジオネラ免疫血清において判定不能とされた41株に対して, M-PCRを適用したところ, 24株(58.5%)がSGg4/10/14, 7株(17.1%)がSGg1, 3株(7.3%)がSGg5, 3株(7.3%)がSGg6/12, 3株(7.3%)がSGg8, 1株(2.4%)がSGg7に血清群別され, 全株がいずれかのSGgに定まった²⁾。

M-PCRで増幅されるバンドサイズは, 100-1,000bpで, かつ互いに40bp以上異なるように設計されており, サイズマーカーと隣り合わせになるように泳動して, 大きさを確認する必要がある。プライマー, およびポジティブコントロールかつサイズマーカーとなる人工遺伝子が販売されており, それらを用いると簡便である。

参考文献

- 1) Nakaue R, et al., J Clin Microbiol 59: e00157-21, 2021
- 2) Komatsu S, et al., Jpn J Infect Dis 76: 77-79, 2023
 国立感染症研究所細菌第一部
 前川純子 佐伯 歩 森田昌知

明田幸宏
 東京大学医学部附属病院検査部
 中植竜大
 埼玉県立大学
 村井美代
 株式会社ファスマック
 森中りえか

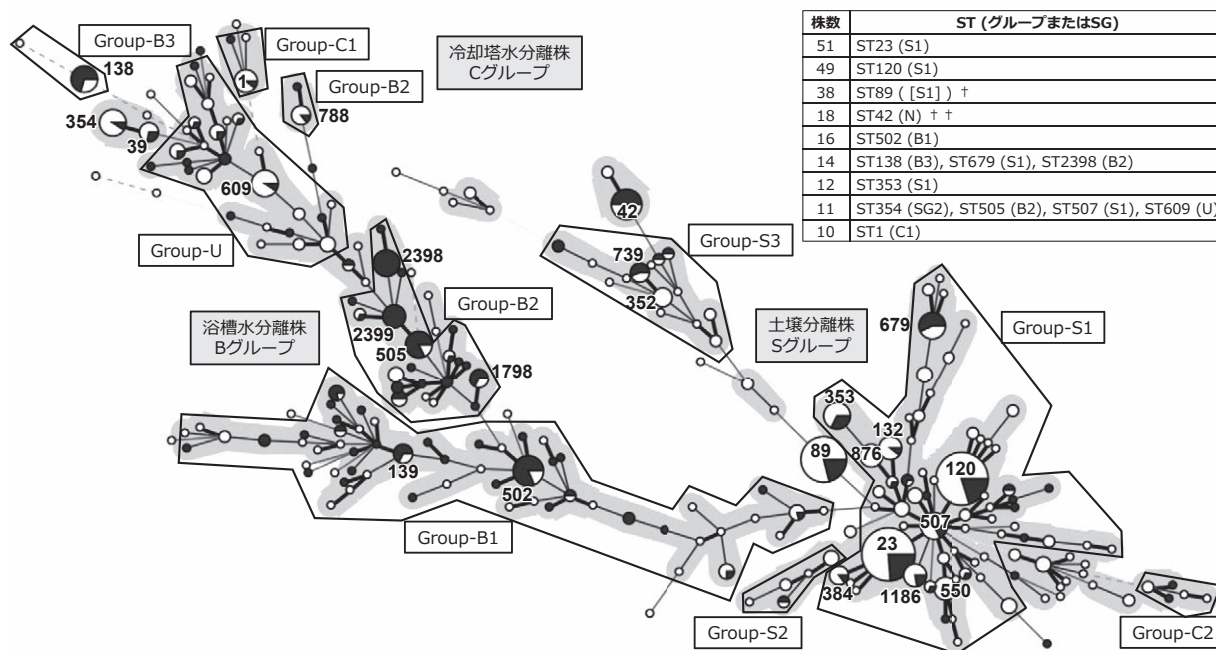
<特集関連情報>

Legionella pneumophila の分子疫学解析

レジオネラ感染症の感染源の特定には, 疫学情報とともに, 臨床分離株および環境分離株の分子疫学解析が不可欠である。*Legionella pneumophila* においては, sequence-based typing (SBT), pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA), whole-genome sequencing (WGS) などの方法で分離株の型別と識別が行われている¹⁻³⁾。

SBT法は, European Working Group of *Legionella* Infections (EWGLI) により標準化された国際的に普及した遺伝子型別法で, *L. pneumophila* の7つの遺伝子 *flaA*, *pile*, *asd*, *mip*, *mompS*, *proA*, *neuA* の一部領域の塩基配列を解読し, その塩基配列により遺伝子型 (sequence type: ST) を決定する⁴⁾。2024年3月時点で, 3,251のSTが報告されている。

国立感染症研究所細菌第一部レジオネラ・レファレンスセンターにおいて収集されたレジオネラ臨床分離株712株(分離年が2013~2023年の菌株)のうち, 702株が *L. pneumophila* (血清群(SG) 1 (630株), SG2 (19株), SG3 (12株), SG4 (2株), SG5 (8株), SG6 (11株),



数字は分離株数の多いSTを示す。円の大きさはそれぞれのSTの株数に比例し、確定または推定感染源が浴槽水のものに黒色で示す。SG1の国内分離株をSTでグループ分けすると、浴槽水分離株が多く含まれるB1, B2, B3、冷却塔水分離株が多く含まれるC1, C2、土壌分離株が多く含まれるS1, S2, S3、感染源不明の臨床分離株が多いUグループに分かれる^{9, 10)}
 分離株数が10株以上のSTを右上表に示す。†各グループに属する遺伝子型と3遺伝子座が異なる場合、[] 付きのグループで示す。† † N: いずれのグループにも属さない

図. *L. pneumophila*国内臨床分離株のminimum spanning tree (MST), 2013~2023年

SG7 (2株), SG8 (3株), SG9 (7株), SG10 (5株), SG13 (2株), SG14 (1株)]であった。*L. pneumophila* 702株においてSBT法を実施したところ、243種類のSTに分けられた(図)。そのうち、分離株数が3株以下のSTが202種類と多くを占め、SBT法の疫学的有用性が確かめられた。しかし、いくつかの特定のST(例えば、ST23は51株、ST120は49株、ST89は38株、ST42は18株分離されている)においては臨床からの分離頻度が高いため、本法のみでは識別力に欠け、他の分子疫学解析と組み合わせて調査する必要がある。

WGSは、SBTやPFGEなどの従来の方法よりも、高い解像度を持ち、識別力の高い手法であることが示されている^{1, 2)}。しかし、WGS解析には課題も生じている。*L. pneumophila*のゲノムは組み換えが頻繁に起こり^{5, 6)}、自然宿主である原生動物からの遺伝子水平伝播も報告されている⁷⁾。このため、WGS解析においては、単一塩基多型(single nucleotide polymorphism: SNP)以外の遺伝情報(例えば、インデル、組み換え領域、可動遺伝因子など)をさらに解析することで、識別力の改善に役立つ可能性が示されている^{6, 8)}。現在、国内レジオネラ臨床分離株のWGSならびに解析手法の検討を進めている。

参考文献

1) David S, *et al.*, J Clin Microbiol 54: 2135-2148, 2016
 2) Raphael BH, *et al.*, Appl Environ Microbiol 82: 3582-3590, 2016
 3) Sobral D, *et al.*, Appl Environ Microbiol 77:

6899-6907, 2011

4) Gaia V, *et al.*, J Clin Microbiol 43: 2047-2052, 2005
 5) Qin T, *et al.*, Sci Rep 6: 21356, 2016
 6) Haas W, *et al.*, J Clin Microbiol 59: e00967-20, 2021
 7) Gomez-Valero L and Buchrieser C, Genes Immun 20: 394-402, 2019
 8) David S, *et al.*, Clin Infect Dis 64: 1251-1259, 2017
 9) Amemura-Maekawa J, *et al.*, Appl Environ Microbiol 78: 4263-4270, 2012
 10) Amemura-Maekawa J, *et al.*, Appl Environ Microbiol 84: e00721-18, 2018

国立感染症研究所細菌第一部

佐伯 歩 前川純子 明田幸宏

<特集関連情報>

レジオネラ・レファレンスセンターの活動

衛生微生物技術協議会レジオネラ・レファレンスセンターは、国立感染症研究所(感染研)細菌第一部と地方衛生研究所(地衛研)全国協議会の全国6支部の各代表地衛研で構成されている。レジオネラ・レファレンスセンターの主な活動は以下の通りである。

(1) レジオネラ臨床分離株の収集と遺伝子型別

感染研細菌第一部レジオネラ・レファレンスセンターでは、レジオネラ臨床分離株を収集している。特に、*Legionella pneumophila*については、sequence-based typing (SBT)

法による遺伝子型別検査を実施し、国内の遺伝子型の分布状況の把握に努め、レジオネラ・レファレンスセンター会議で報告している。個々の遺伝子型別検査結果は地衛研から保健所、医療機関に還元される。分子疫学情報の蓄積は、感染源の解明につながることを期待される。

(2) レジオネラ検査試薬の配布

L. pneumophila 混合免疫血清および臨床・環境から分離されることがあるレジオネラ属菌の免疫血清の受託作製をデンカ株式会社に依頼し、希望する地衛研に配布している。

マルチプレックスPCRによる *L. pneumophila* 血清型別用プライマーおよびコントロールDNAを購入し、希望する地衛研に配布している。

(3) レジオネラ外部精度管理への参加

レジオネラ・レファレンスセンターで2017年に行ったアンケート調査によると、98%の地衛研が環境水のレジオネラ検査を実施していた。環境水のレジオネラ検査は定量試験であり、検水の濃縮、夾雑菌の発育を抑制するための前処理、レジオネラ様コロニーの判別等、工程が多いため、検査の精度管理は重要である。レジオネラ・レファレンスセンターでレジオネラ外部精度管理への地衛研の参加の支援、とりまとめを行っている（本号14ページ参照）。

最後に、以下のようにお願い申し上げます。臨床分離株が収集された場合、あるいは臨床分離株を保有している場合、感染研細菌第一部レジオネラ・レファレンスセンターに菌株を分与ください。送付された菌株の型別の結果は随時送付者にお返ししています。菌株収集にご尽力いただいた地方衛生研究所、保健所、病院関係者に感謝申し上げます。さらに引き続きご協力をお願いいたします。

衛生微生物技術協議会

レジオネラ・レファレンスセンター

国立感染症研究所細菌第一部

佐伯 歩 前川純子

仙台市衛生研究所

大森恵梨子

神奈川県衛生研究所

陳内理生

富山県衛生研究所

金谷潤一

神戸市健康科学研究所

中西典子

広島県立総合技術研究所保健環境センター

平塚貴大

宮崎県衛生環境研究所

岡部祐未

<特集関連情報>

レジオネラ対策に関連した通知等について ～近年の動向～

レジオネラ属菌は、土壌、河川、湖沼などの自然環境に生息する環境細菌であり、一般にその菌数は少ないと考えられますが、人工の施設や設備の中で多く増殖することがあり、これを吸い込むことにより感染して、レジオネラ症を発症するリスクがあります。レジオネラ症の予防には、レジオネラ属菌を増やさないよう、日頃から施設や設備の衛生管理が必要となります。他の特集関連情報にある通り、浴槽水や冷却塔といった人工的な水環境を汚染源とする、レジオネラ集団感染が報告されています。すなわちレジオネラ症は環境からヒトに感染する感染症であり、ヒトからヒトに感染する他の感染症とは大きく異なり、身の回りの生活衛生が大事になります。

当課では生活衛生対策の一環として、公衆浴場や旅館などの施設におけるレジオネラ症の蔓延を防止するための、衛生管理要領やマニュアル等をお示ししているところです¹⁾。これらは厚生労働科学研究で得られた最新の知見などから適宜改正が行われており、その内容は当課から通知等で情報発信しています。レジオネラ症の事故が発生すれば、対策徹底の事務連絡も当課から発出しています。本稿では、平成25(2013)年以降に当課から発出したレジオネラ対策に関する通知等について、その名称や制定年月日をまとめ、その中からいくつか改正内容の概要等を紹介いたします（次ページ表）。

「公衆浴場における衛生等管理要領等について」〔平成12(2000)年12月15日付け生衛発第1811号厚生省生活衛生局長通知〕は、公衆浴場および旅館業における衛生管理等について技術的助言として示しているもので、内容として「別添1 公衆浴場における水質基準等に関する指針」、「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」、「別添3 旅館業における衛生等管理要領」から構成されます。

令和元(2019)年9月19日には「公衆浴場における衛生等管理要領等の改正について」が発出されており、厚生労働科学研究で得られた最新の知見に基づく改正が行われています。具体的には、公衆浴場と旅館業の浴槽水の消毒にあたり、遊離残留塩素濃度を0.2ないし0.4mg/L程度に保つとされていたところ、0.4mg/L程度を保つと改正されました。レジオネラ症の感染事例で遊離残留塩素濃度0.2mg/Lの記録が続いていても、実際にはその濃度が達成できていなかったか、効果不十分などがあったため、このような改正となっています。また、シャワー、集毛器、調整箱、気泡発生装置の清掃・消毒、貯湯槽は完全に排水のできる構造とすること、配管の状況を正確に把握し不要な配管を除去すること、水位計配管は1週間に1回以上の適切な消毒方法で生物膜を

表. レジオネラ対策に係る当課関連通知等の制定年月日と名称, 種別番号

制定年月日	通知等の名称	種別番号
平成27年3月31日	特定建築物に係る個別管理方式の空気調和設備の加湿装置及び排水受けの点検等について	健衛発第331009号
平成27年3月31日	「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	健衛発第331007号
平成29年12月26日	住宅宿泊事業法施行要領（ガイドライン）について	観観産第603号／国住街第166号／国住指第3351号／国土動第113号／生食発第1226002号
令和元年9月19日	公衆浴場における衛生等管理要領等の改正について 〔旅館業法〕〔公衆浴場法〕	生食発第919008号
令和元年9月19日	「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」	薬生衛発第919001号
令和元年12月17日	「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	薬生衛発第1217001号
令和2年5月13日	施設の使用再開に伴うレジオネラ症への感染防止対策について	
令和4年4月15日	公衆浴場における衛生等管理要領等の遵守について	
令和4年5月13日	入浴施設の衛生管理の手引き	
令和4年5月13日	公衆浴場における衛生等管理要領等の遵守について（その2）	
令和5年2月27日	旅館業における入浴施設のレジオネラの防止対策及びコンプライアンスの遵守の周知徹底について	

除去すること, といった内容の追記もなされています。これらも原因の解析により, 管理不足や設備構造が原因であること等が明らかになったことによるものです。

公衆浴場におけるレジオネラ検査の具体的な手順については, 「公衆浴場における水質基準等に関する指針」において, 「新版レジオネラ症防止指針」の「<付録> 1 環境水のレジオネラ属菌検査方法」を参照すること, とされていましたが, 環境水中のレジオネラを計測する方法を記載したISO11731の改正と厚生労働科学研究の成果を踏まえ, 検査精度の平準化等を目的として, 「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」が令和元（2019）年9月19日に発出されています。これらの改正通知をうけて, 令和元（2019）年12月17日には「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（2001）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〕の改正も行われています。

現在当課から示している衛生管理要領・マニュアルで直近のものは, 令和4（2022）年5月13日の「入浴施設の衛生管理の手引き」です。この手引きも厚生労働科学研究の一環として作成されており, 入浴施設の具体的な衛生管理をわかりやすく解説するとともに, 実践的方法を紹介するものとなっています。

近年もレジオネラ対策が不十分であったために, 基準を上回るレジオネラ属菌が検出された事例や, レジオネラ症による死亡事例がありました。こうした事態を防ぐために, 衛生要領やマニュアル等を参考にし, レジオネラ対策の徹底をお願いいたします。

参考文献

1) 厚生労働省, レジオネラ対策のページ

<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000124204.html>

厚生労働省健康・生活衛生局生活衛生課

<国内情報>

流行性角結膜炎患者からのヒトアデノウイルス新規リコンビナント株の検出 — 広島市

本市において流行性角結膜炎と診断された患者から, ヒトアデノウイルス（HAdV）新規リコンビナント株が分離され, その解析を行ったので報告する。

感染症発生動向調査として採取された結膜ぬぐい液について, ウイルス分離および遺伝子解析を行った。ウイルス分離については, A549細胞において細胞変性が確認されたため, HAdV中和用抗血清（デンカ）を用いて中和試験を実施したところ, 8型と同定された。遺伝子解析については, 病原体検出マニュアル¹⁾に従い, HAdVの主要な構造タンパクをコードするペントンベース（P）, ヘキソン（H）, ファイバー（F）の3領域についてダイレクトシーケンスにより部分配列を決定し, 参照株との相同性解析を実施したところ, 次ページ表に示す株と高い相同性を示した。各領域で最も高い相同性を示した型で病原体検出マニュアル記載のPHF表記を行うと, [P64H8F53] または [P64H8F85] となる。また, 各領域の系統樹解析の結果は次ページ図1のとおりであった。

HAdVのリコンビナント発生状況を取りまとめている Human Adenovirus Working Group のwebサイト (<http://hadvwg.gmu.edu/>) 上では, 2024年4月5日現在, 次ページ表に示した型の組み合わせによるリコンビナントの報告はなく, 今回の分離株は新規リコンビナントであると考えられたため, 上記の3領域以外での組み換え状況の確認を目的として, 次世代シーケンサー（NGS）による全ゲノムシーケンスを行った。得られた全長配列を用いて, 分離株に対する各参照株の相同性を可視化するため, 次ページ図2に示すとおり, Simplot++²⁾による解析を実施したところ, ペントンベース領域の上

表. HAdV各領域の部分配列における相同性

ペントンベース領域		ヘキソン領域		ファイバー領域	
型	Accession No.	型	Accession No.	型	Accession No.
64型 (99.7%, 1052塩基)	EF121005	8型 (99.9%, 830塩基)	AB448769	53型 (100%, 988塩基)	FJ169625
109型 (98.0%, 1061塩基)	OM830314	24型 (83.5%, 838塩基)	JN226751	85型 (100%, 988塩基)	LC314153
42型 (97.2%, 1062塩基)	JN226761	44型 (82.5%, 833塩基)	JN226763	8型 (99.8%, 988塩基)	AB448769
22型 (97.1%, 1062塩基)	FJ404771	53型 (82.2%, 830塩基)	FJ169625	54型 (96.8%, 988塩基)	AB333801

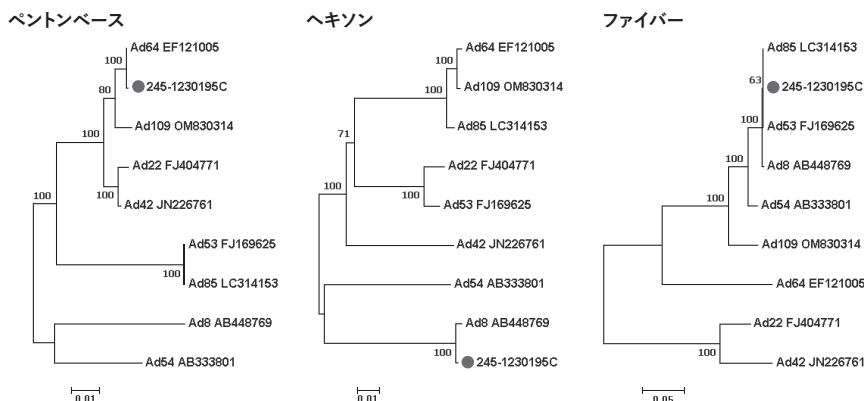


図1. HAdV各領域の部分配列による系統樹解析

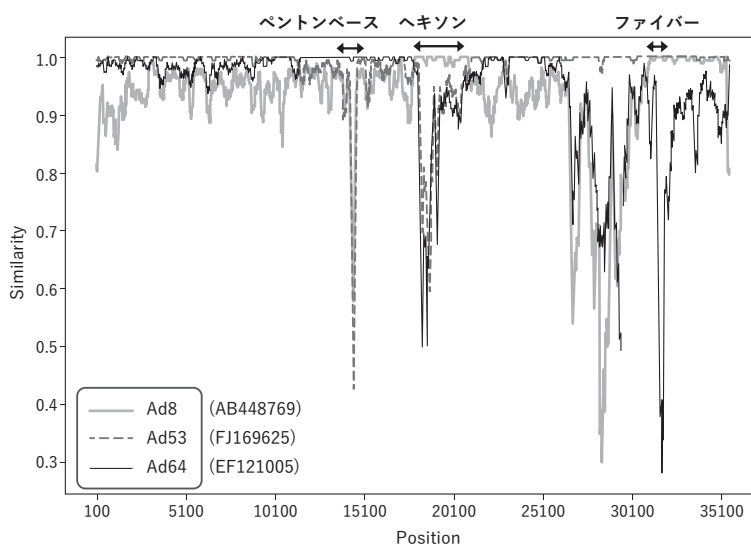


図2. HAdV新規リコンビナント株を基準としたSimplot++による解析

流および下流についても64型と高い相同性を示した。これらの領域ではカプシドや核タンパク質の形成に関与するpIIIa, pVII, pV, pX, pVIなどのタンパク質がコードされており³⁾、ペントンベース領域と同様に組み換えが起こったと推察される。また、これらの領域およびヘキソン領域を除いてはHAdV-53型 [P37H22F8] との相同性が高く、今回分離された株はHAdV-53型由来のリコンビナント株であることが示唆された。

近年、国内外で複数のHAdVリコンビナントが報告されており^{4,5)}、リコンビナント株がさらなる組み換え

を起こしている状況にある。今後も新たな組み換えが多く発生すると予想され、状況に応じてゲノム解析等を活用しながら、引き続き検出状況について注視する必要があると考える。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所感染症疫学センター, 咽頭結膜熱・流行性角結膜炎 検査・診断マニュアル (第3版)
- 2) Samson S, *et al.*, *Bioinformatics* 38: 3118-3120, 2022
- 3) Russell WC, *J Gen Virol* 90: 1-20, 2009

- 4) 廣瀬絵美ら, IASR 42: 78-79, 2021
 5) Akello JO, *et al.*, Sci Rep 11: 24038, 2021
 広島市衛生研究所生物科学部
 山木戸 聡 宇野拓也 児森清香
 川原康嗣 山本美和子
 広島市保健所環境衛生課
 埜 朋実
 国立感染症研究所
 感染症危機管理研究センター
 花岡 希

<国内情報>

カルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (carbapenem-resistant Enterobacterales, CRE) 病原体サーベイランス, 2022年

カルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (CRE) 病原体サーベイランスは、通知 (健感発0328第4号, 2017年3月28日) に基づき実施されている。本稿では、検体採取日が2022年1月1日~12月31日として病原体検出情報システムに登録された株のうち、保菌例などCRE感染症届出患者以外からの分離株である旨が明記された株を除く1,426株 (2024年3月8日現在) の概要を示す。1,426株のうち、1,391株 (97.5%) には発生動向調査届出患者由来であることを示す発生動向報告IDの記載があり、CRE感染症届出患者1,376名由来と考えられた。残る35株 (2.5%) にもCRE感染症届出患者分離株が含まれるが、その数は不明である。

1,426株の分離検体は、尿 (n=410, 28.8%), 血液・

髄液 (n=355, 24.9%), 呼吸器検体 (n=240, 16.8%), 腹腔内検体 (n=142, 10.0%), 皮膚・軟部組織検体 (n=106, 7.4%), 穿刺液 (n=65, 4.6%) で、菌種は、*Klebsiella aerogenes* (n=568, 39.8%), *Enterobacter cloacae* complex (n=415, 29.1%), *Klebsiella pneumoniae* (n=137, 9.6%), *Escherichia coli* (n=76, 5.3%), *Serratia marcescens* (n=61, 4.3%), *Citrobacter freundii* (n=31, 2.2%) および *Klebsiella oxytoca* (n=31, 2.2%) の順に多く、検体の種類および上位5菌種の順は2017年以降変わらない。

表に、通知に基づいて地方衛生研究所等で実施された各検査数と陽性数を示す。1,426株のうち、いずれかのカルバペネマーゼ遺伝子陽性株は212株 (14.9%) であった。この割合は、2017年のCRE病原体サーベイランス開始以降、最も低い値となった。カルバペネマーゼ遺伝子陽性212株におけるカルバペネマーゼ遺伝子型内訳は、IMP型173株 (81.6%), NDM型33株 (15.6%), KPC型2株 (0.9%), OXA-48型2株 (0.9%) であった。その他の遺伝子型として、GES型2株 (塩基配列決定による遺伝子型別報告内訳GES-24, n=2) が報告された。

IMP型陽性173株の菌種内訳は、全国では *E. cloacae* complex (n=88, 50.9%), *K. pneumoniae* (n=35, 20.2%), *E. coli* (n=24, 13.9%), *K. oxytoca* (n=9, 5.2%) の順に多かった。ブロック別では、関東甲信静と九州沖縄は *E. cloacae* complex (68.3%, 43/63 および 62.1%, 18/29) が、近畿は *E. coli* (36.8%, 14/38) が最も多かった。IMP型陽性株の62.4%にあたる108株 (20道府県) はカルバペネマーゼ遺伝子の塩基配列決定がなされた。IMP-1は66株 (15道府県) で、すべての地域より

表. 病原体検出情報システム報告対象の各検査数と陽性数

検体採取期間		2022年1~12月 (n=1,426)		
検査項目		検査実施機関数*	検査数 (%)	陽性数 (%**)
原則実施	IMP型	74	1,426 (100.0)	173 (12.1)
	NDM型	74	1,426 (100.0)	33 (2.3)
	KPC型	74	1,426 (100.0)	2 (0.1)
	OXA-48型	74	1,426 (100.0)	2 (0.1)
	メタロ-β-ラクタマーゼ試験	74	1,426 (100.0)	206 (14.4)
推奨	ボロン酸試験	74	1,426 (100.0)	230 (16.1)
	VIM型	62	1,165 (81.7)	0 (0.0)
	GES型	61	1,157 (81.1)	2 (0.2)
	IMI型	31	373 (26.2)	0 (0.0)
	KHM型	30	431 (30.2)	0 (0.0)
	SMB型	27	327 (22.9)	0 (0.0)
	CarbaNP test***	15	241 (16.9)	40 (16.6)
CIM***	47	673 (47.2)	117 (17.4)	
いずれかのカルバペネマーゼ遺伝子陽性			1,426	212 (14.9)

* その検査項目結果を1株でも報告した地方衛生研究所等の検査実施機関数、検査項目は2017年3月通知 (健感発0328第4号) に基づく
 ** 検査株数に対する陽性率 (%)
 *** CarbaNP test, CIMの少なくとも一方が実施された株は52施設831株 (全体の58.3%)、カルバペネマーゼ遺伝子非検出株に絞ると51施設698株 (非検出株の57.5%)

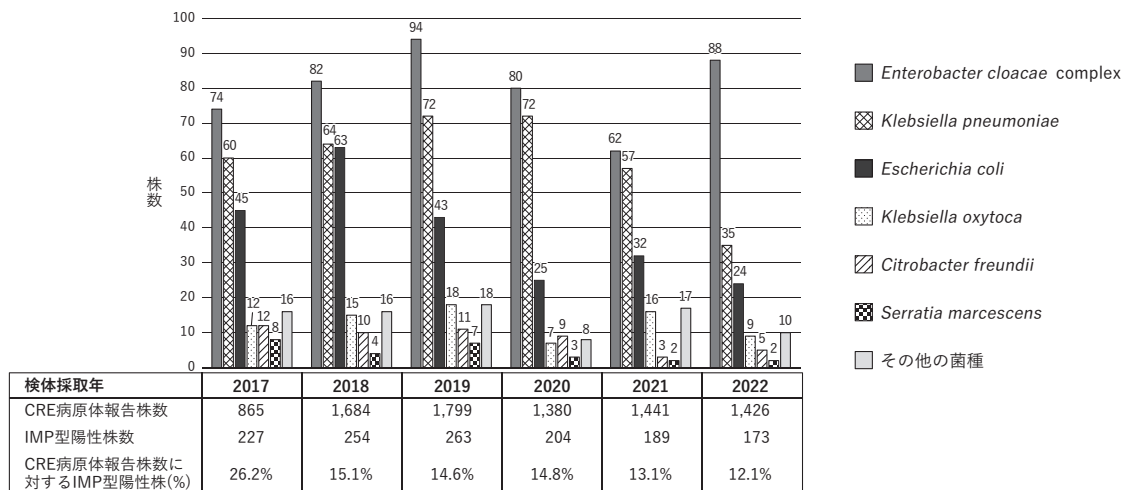


図. IMP型陽性株の菌種別報告数, 2017~2022年

報告があった。IMP-6は39株（6道府県）であり、うち4株が中国四国、27株が近畿、7株が東海北陸で、1株は北海道東北新潟からの報告であった。その他の型として関東甲信静よりIMP-19、中国四国よりIMP-11、九州沖縄よりIMP-4がそれぞれ1株ずつ報告された。

図にIMP型陽性株の菌種別報告数およびCRE病原体報告数に対するIMP型陽性株の割合を年別に示す。2019年以降、IMP型陽性株の割合は減少傾向がみられている。菌種別にみると、全国のIMP型陽性株に占める*E. cloacae* complexの割合は、2017~2021年まで30~40%であったが¹⁻⁵⁾、2022年に初めて50%を超えた。*E. cloacae* complexのIMP型陽性株数は、年による差があり、2021年が最も少なかったが2022年は再び増加した。一方、*K. pneumoniae*と*E. coli*はそれぞれ2019年、2018年をピークに減少傾向がみられており、いずれも2022年は最も少ない検出数となった。2019年以降のCRE病原体報告数に占めるIMP型陽性株の割合の減少の一因として、IMP型陽性の*K. pneumoniae*および*E. coli*の減少が考えられる。

海外型カルバペネマーゼ遺伝子であるNDM型、KPC型、OXA-48型陽性株は合わせて37株であり、全報告株数 (n=1,426) の2.6%を占めた。37株は37名より分離され、うち34名 (91.9%) は海外渡航歴のない患者であった。海外渡航歴のない患者から分離された34株の遺伝子型内訳は、NDM型31株 (NDM-1, n=19; NDM-5, n=9; NDM-7, n=3), KPC型2株 (KPC-2, n=2), OXA-48型1株であった。菌種内訳は、NDM-1は*K. oxytoca* 12株、*K. pneumoniae* 3株、*E. cloacae* complex 2株、*C. freundii* 1株、*E. coli* 1株、NDM-5は*E. coli* 8株、*Citrobacter koseri* 1株、NDM-7は*C. freundii* 1株、*K. oxytoca* 1株、*E. cloacae* complex 1株、KPC-2は*K. pneumoniae* 1株および*E. cloacae* complex 1株、OXA-48型は*E. coli* 1株であった。海外渡航歴のある患者からは、NDM-5陽性*E. coli*、NDM-7陽性*E. coli*、OXA-48型陽性*K. pneumoniae*が1株ずつ報告された。

病原体検出情報システムに登録された1,426株を、2022年のCRE感染症の発生動向調査届出 (患者報告) 数2,015例 (感染症発生動向調査事業年報) で除した値を報告率とすると70.8%であり、2020年以降横ばい状態が続いている。2022年のブロック別報告率は北海道東北新潟80.1%、関東甲信静70.5%、東海北陸32.2%、近畿78.1%、中国四国85.8%、九州沖縄76.5%であった。

CRE病原体サーベイランス開始から7年が経過し、着実にデータが蓄積されてきた。IMP陽性株の割合や菌種内訳に変化がみられており、カルバペネマーゼ遺伝子保有状況やその推移を正確に把握するために、引き続き全国のかつ継続的なサーベイランス実施が必要である。

参考文献

- 1) IASR 39: 162-163, 2018
- 2) IASR 40: 157-158, 2019
- 3) IASR 42: 123-124, 2021
- 4) IASR 43: 215-216, 2022
- 5) IASR 44: 130-131, 2023

国立感染症研究所
薬剤耐性研究センター
感染症疫学センター
全国地方衛生研究所

訂正のお詫びとお願い

IASR Vol. 43 No.4の掲載記事に誤りがありました。下記のように訂正くださいますようお願い申し上げます。

* p22図1およびp23図2右側タテ軸の説明
誤: 陽性数
↓
正: 陽性率

また、下記URLにも訂正箇所を掲載しておりますので、ご参照ください。
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/flu-m/flu-iasrd/11091-506d02.html>