

工事後のアスペルギルス、レジオネラのサーベイランス

## ② レジオネラ

**神戸市立医療センター中央市民病院  
臨床検査技術部 山本 剛**

# レジオネラに関する法律

- ・建築物における衛生的環境の確保に関する法律（ビル管理法）

昭和四十五年四月十四日(法律第二十号)

- ・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（感染症法）

平成10年10月2日法律第114号

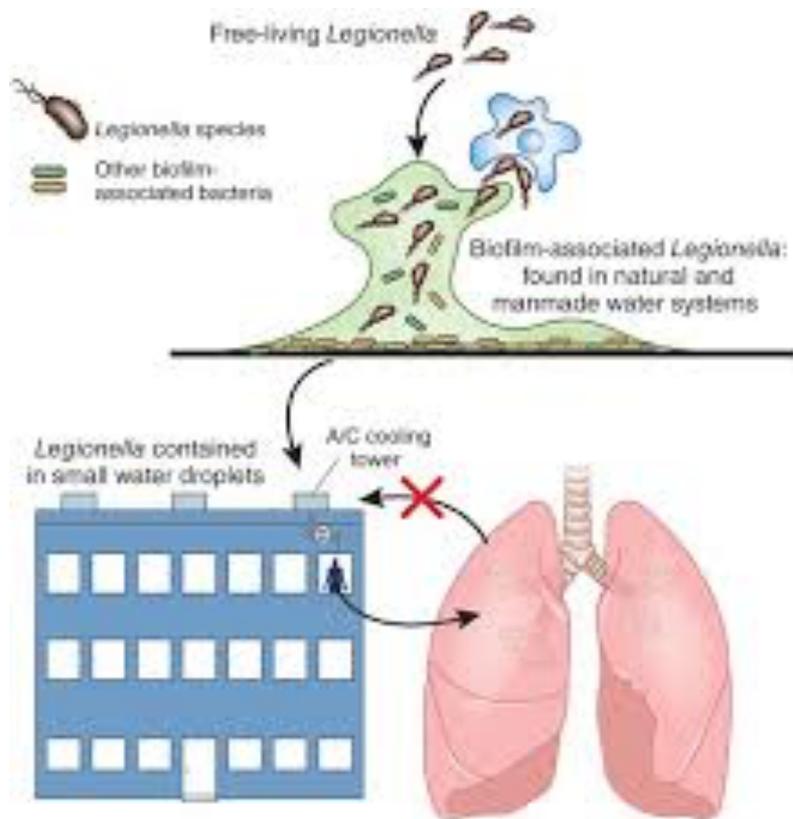
# 前提条件

レジオネラ菌分離のための検査は

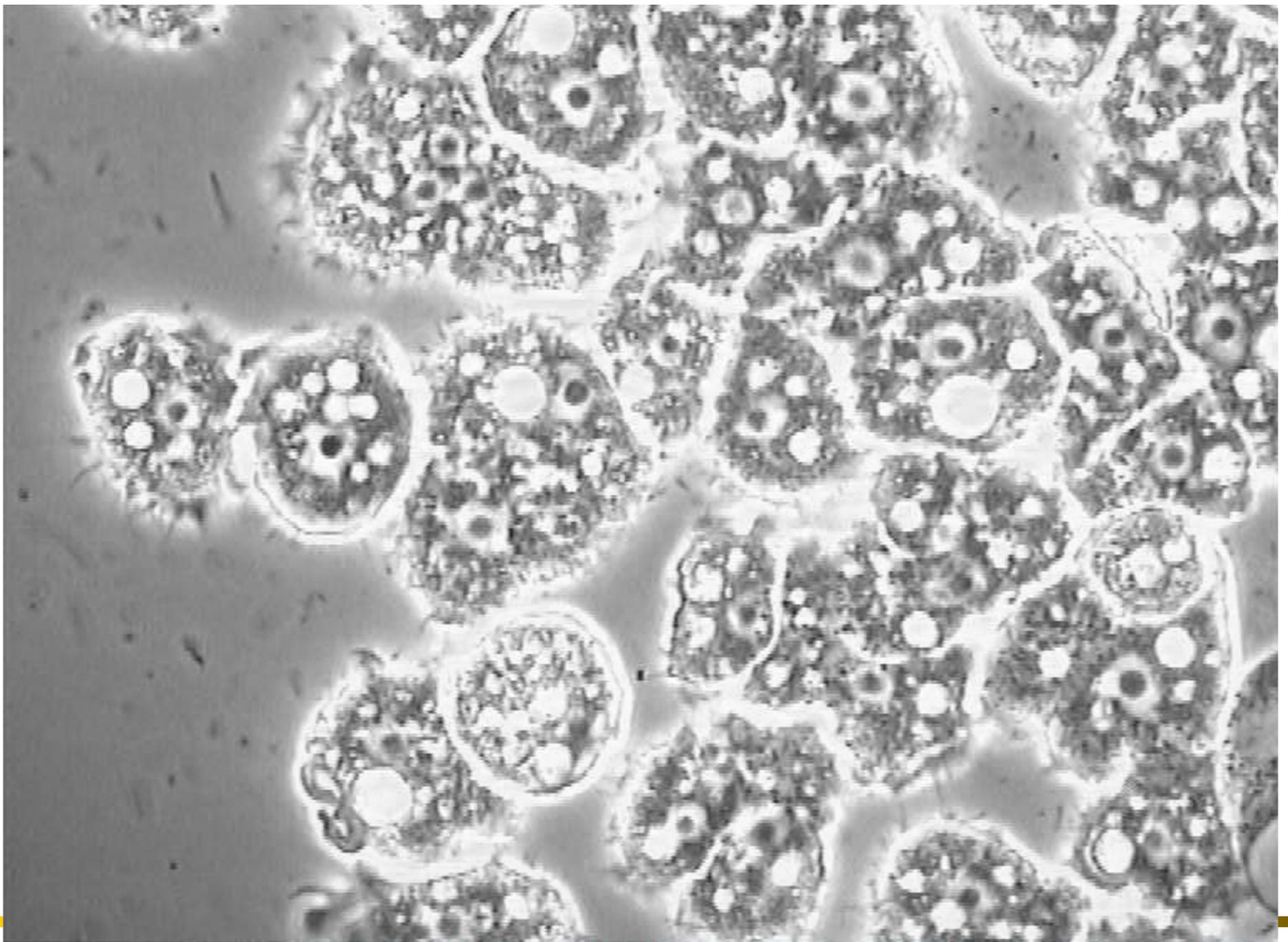
- ・日常的に実施しないため、
- ・患者発生や環境中の異常を確認

しない限り、レジオネラ菌について問題視されない。

# レジオネラ菌の生活史



- 環境中の水に存在する
- 病院環境では給水システムが問題  
特に温水が問題になる
- 汚染したエアロゾルを肺吸入することで感染  
健常者でも感染する  
高齢者や喫煙者は高リスク



# レジオネラ感染症の集団感染例

衛生微生物技術協議会第39回研究会（滋賀）

年月	感染源	地域	確定患者数	死亡者数
1980.8-9	不明（病院）	福岡県	7	
1990.12	不明（老人ホーム）	長崎県	3	
1994.8	冷却塔（研修所）	東京都	1*	
1996.1-2	給湯設備、加湿器（新生児病棟）	東京都	4	1
1996.6	温泉	岩手県	3	1
1998.5	入浴施設（特別養護老人ホーム）	東京都	12	1
2000.1	加湿器（新生児病棟）	広島県	2	1
2000.2	温泉	静岡県	2	
2000.3	温泉（オープン直後）	静岡県	23	2
2000.4	温泉	山形県	3	
2000.6	公衆浴場（オープン直後）	茨城県	27	3
2002.4-7	不明（乳児院）	福島県	8	
2002.7	温泉（オープン直後）	宮崎県	46	7
2002.7	温泉	山形県	2	
2002.8	温泉（オープン直後）	鹿児島県	9	1
2003.1	循環式浴槽（客船）	客船	3	
2003.11	冷却塔（清掃工場）	京都府	2	
2006.12	入浴施設（フィットネスクラブ）	新潟県	2	

\* ポンティアック熱、他に確定でない患者数: 44

# 4つの基準

- ✓ 曝露と潜在的な曝露リスクの条件
- ✓ エアロゾル発生メカニズムの解明
- ✓ レジオネラ発生との因果関係の確認
- ✓ 患者から分離された株と環境から分離された株との  
相同性の確認。複数菌分離された場合は亜型の  
確認まで必要となる。

# 病院環境中のサンプル

1. 一般的な飲料水（水または沈渣）  
温水、貯水タンクの水
2. 終末端給水の飲料水（水または沈渣）  
シャワーの水、蛇口の水（温水）、透析の水
3. 機器に使用する水  
呼吸療法で使用する水、加湿用の水、製氷機の水、風呂の水

# サンプル採取法

1. 綿棒
2. 流水
3. 温水タンク
4. 風呂水

# 綿棒による採取

滅菌綿棒を挿入し採取する。

- ・4回以上擦る。
- ・アウトレットや浄水用の機材など余分な構造物は全て取り除く

綿棒は乾燥しないように工夫を行う。

**水が停留しやすい場所からのサンプリングを行う。**

# 流水の採取

水を1L採取する。



- ・綿棒で拭いた後に採取する。
- ・給湯がある場合は、最初の1～2分水を出し、温水が安定したところで採取する。
- ・滅菌したガラスまたはプラスチック容器に採取する。
- ・塩素消毒済みの水は中和処理を行う（1Lあたり15mgのチオ硫酸Na）。

# 温水タンク水の採取



温水を10～50mL採取する。

- ・滅菌した容器に採取する。
- ・パイプ内の温水は直ぐに採取する。
- ・タンク内の温水は30秒間フラッシングした後に採取する。



# 風呂水の採取



- ・給水口、ジェット吹き出し口は滅菌綿棒で採取する。

- ・湯水はそのまま1L採取（排水は×）する。

- ・フィルターチャンバーではは300-500mLの水を採取する。



- ・フィルター内の砂もしくは滅菌ハサミで切り刻んだフィルターを採取する。

# サンプルの保管方法

採取後のサンプルは雑菌の増殖を抑えるため以下の保管方法が望ましい

- ・4℃で保管
- ・48時間以内に検査を開始する

# 検査方法

## 1. 検体の濃縮

- ・非濃縮法
- ・ろ過濃縮法(0.2 $\mu$ mフィルターで100倍濃縮)
- ・遠心濃縮法(3,000g,30分後上清を廃棄)

## 2. 雑菌処理

未処理,熱処理(50 $^{\circ}$ C,20分),酸処理(pH2.2,4分)

## 3. 選択培地の使用

B-CYEa培地 (L-システイン要求性)

WYO培地,GVPC培地

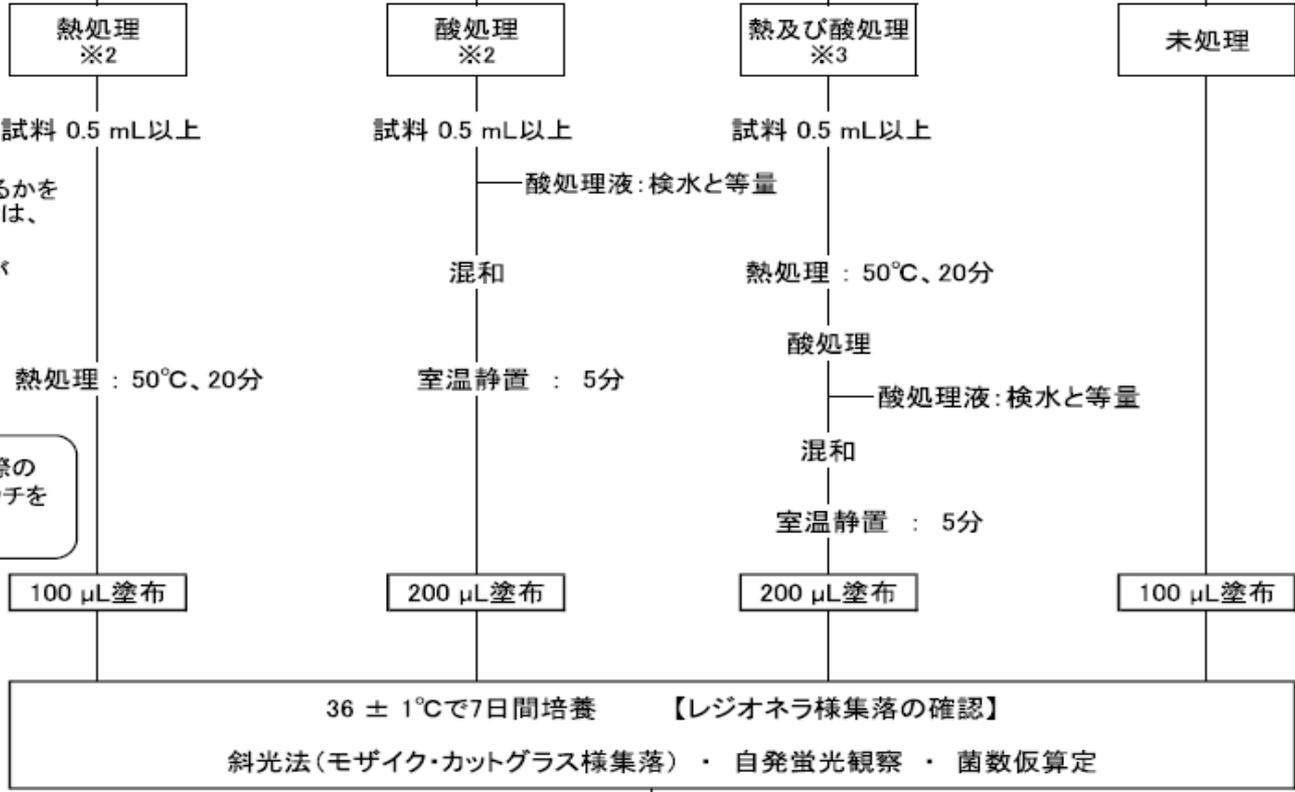
**迅速検査法 ※1**

※1 「2.9迅速検査法」を参照のこと

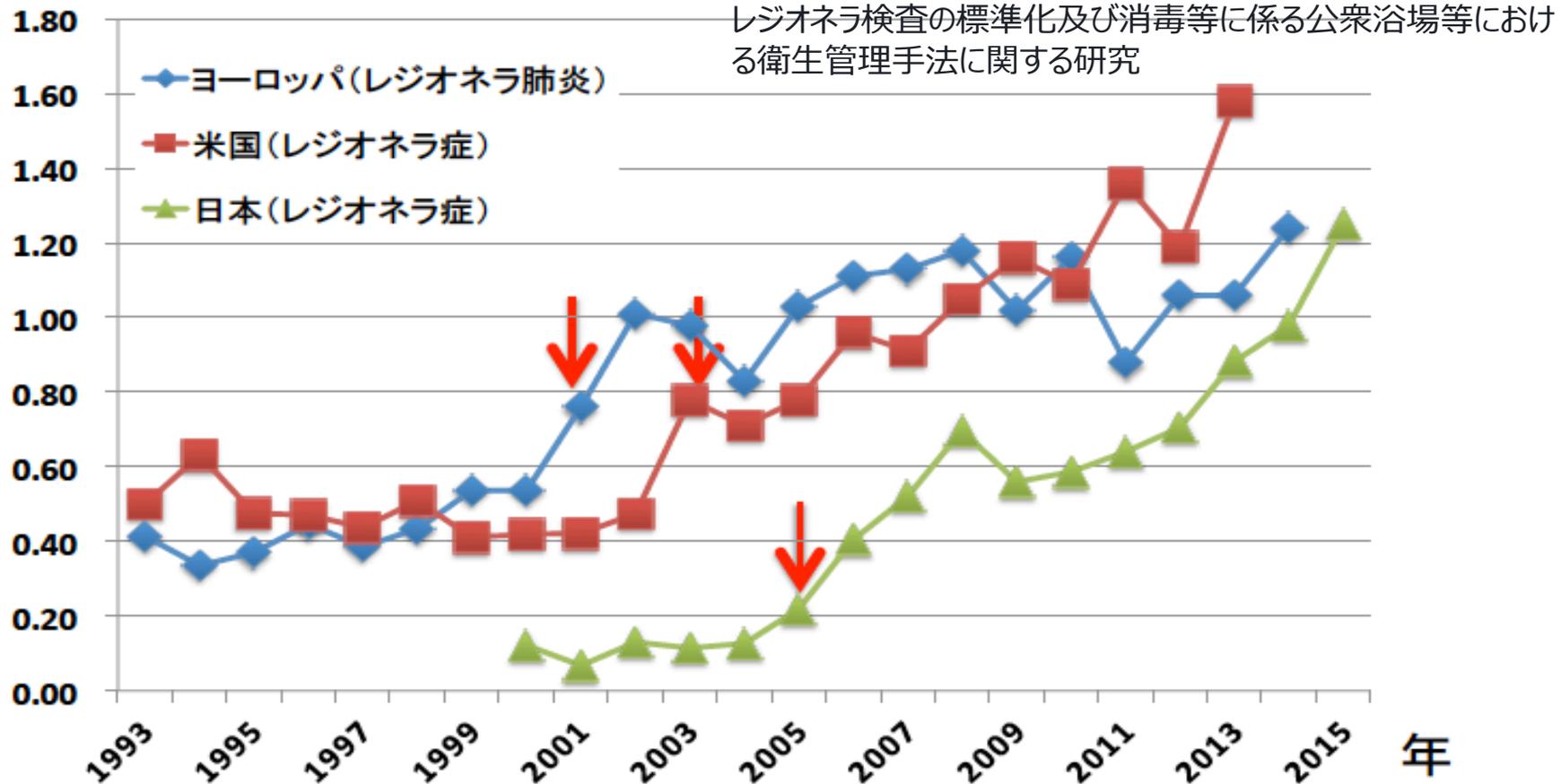
**培養検査法**

※2 どちらか実施する  
どちらが適しているかを  
判断できない場合は、  
両方を行うこと  
※3 培地上に夾雑菌が  
多い場合に追加

\* 培地に塗布する際の  
力加減は、ソフトタッチを  
意識すること



# レジオネラ感染症罹患率の国際比較



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

# ヒトから分離される*Legionella*属の58菌種

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. adalaidensis</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。

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



# 分離された*Legionella*属の内訳

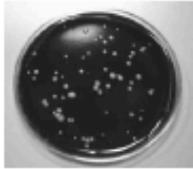
衛生微生物技術協議会第39回研究会（滋賀）

## 収集臨床分離株の内訳

2017年3月末日現在

<i>L. pneumophila</i> 375株 (97.9%)		<i>L. bozemanae</i> 1株 (0.2%)
SG1 458株 (86.7%)	SG9 6株 (1.1%)	<i>L. dumoffii</i> 1株 (0.2%)
SG2 9株 (1.7%)	SG10 3株 (0.6%)	<i>L. feeleii</i> 1株 (0.2%)
SG3 14株 (2.7%)	SG12 2株 (0.4%)	<i>L. londiniensis</i> 1株 (0.2%)
SG4 3株 (0.6%)	SG13 2株 (0.4%)	<i>L. longbeachae</i> 6株 (1.1%)
SG5 8株 (1.5%)	SG14 1株 (0.2%)	<i>L. rubrilucens</i> 1株 (0.2%)
SG6 8株 (1.5%)	SG15 1株 (0.2%)	
SG8 1株 (0.2%)	UT* 1株 (0.2%)	
*デンカ生研レジオネラ免疫血清ニューモフィラ1-15群のいずれにも反応しなかった。		計 528株 (100%)

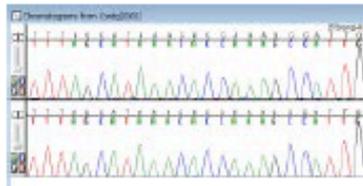
# Sequence-based typing (SBT)法



*L. pneumophila* のコロニーから  
DNAを取り出す。



特定（7カ所）のDNA断片を  
PCR法で増幅する。

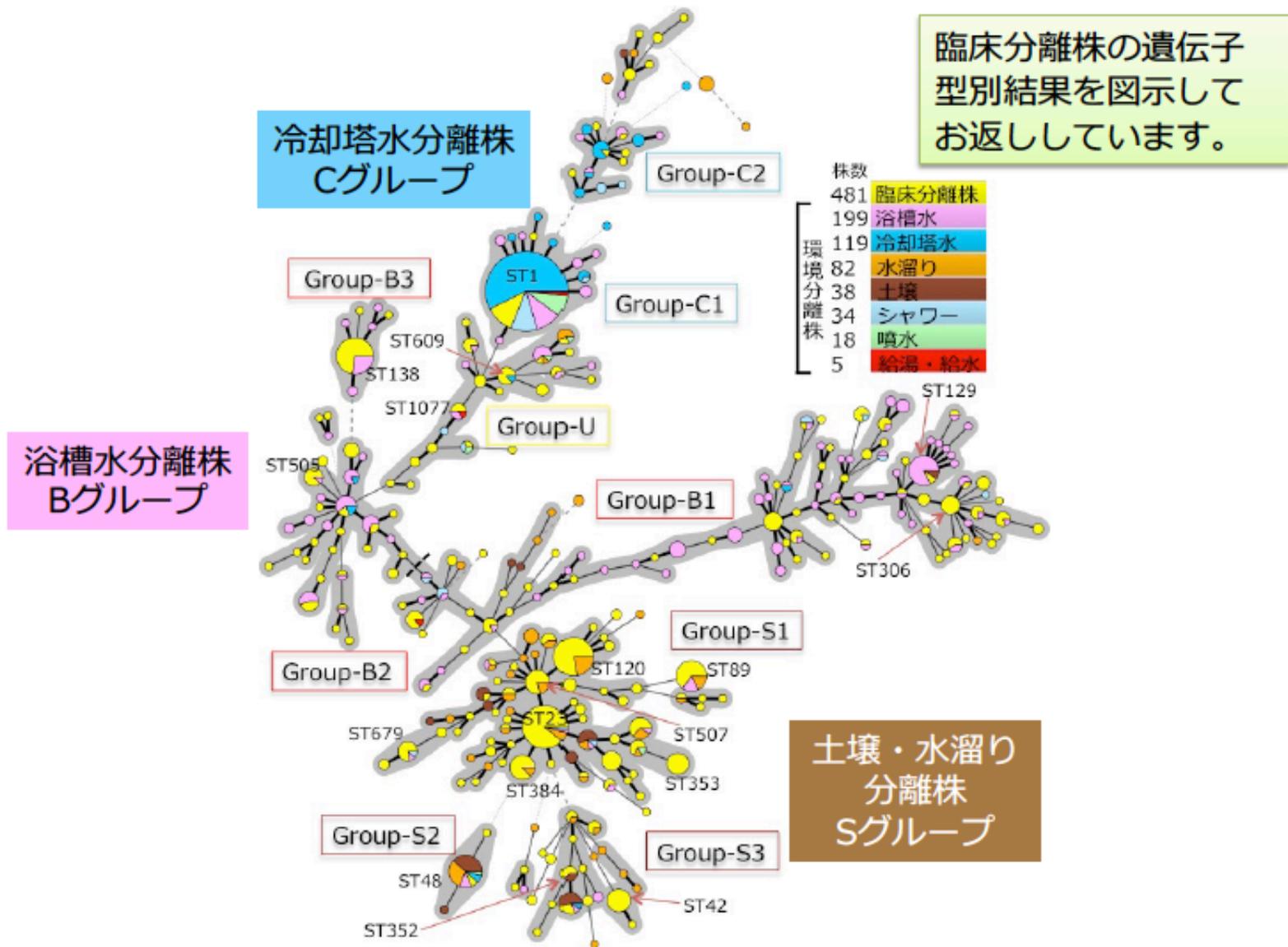


DNA断片の塩基配列を読み取り、  
配列の違いに応じて番号をつける。

例) (*flaA*, *pilE*, *asd*, *mip*, *mompS*, *proA*, *neuA*)  
=(2,3,9,10,2,1,6) ST23



国内で分離された*L. pneumophila* 血清群1 (976株) の minimum spanning tree 図



# 検査機関への依頼

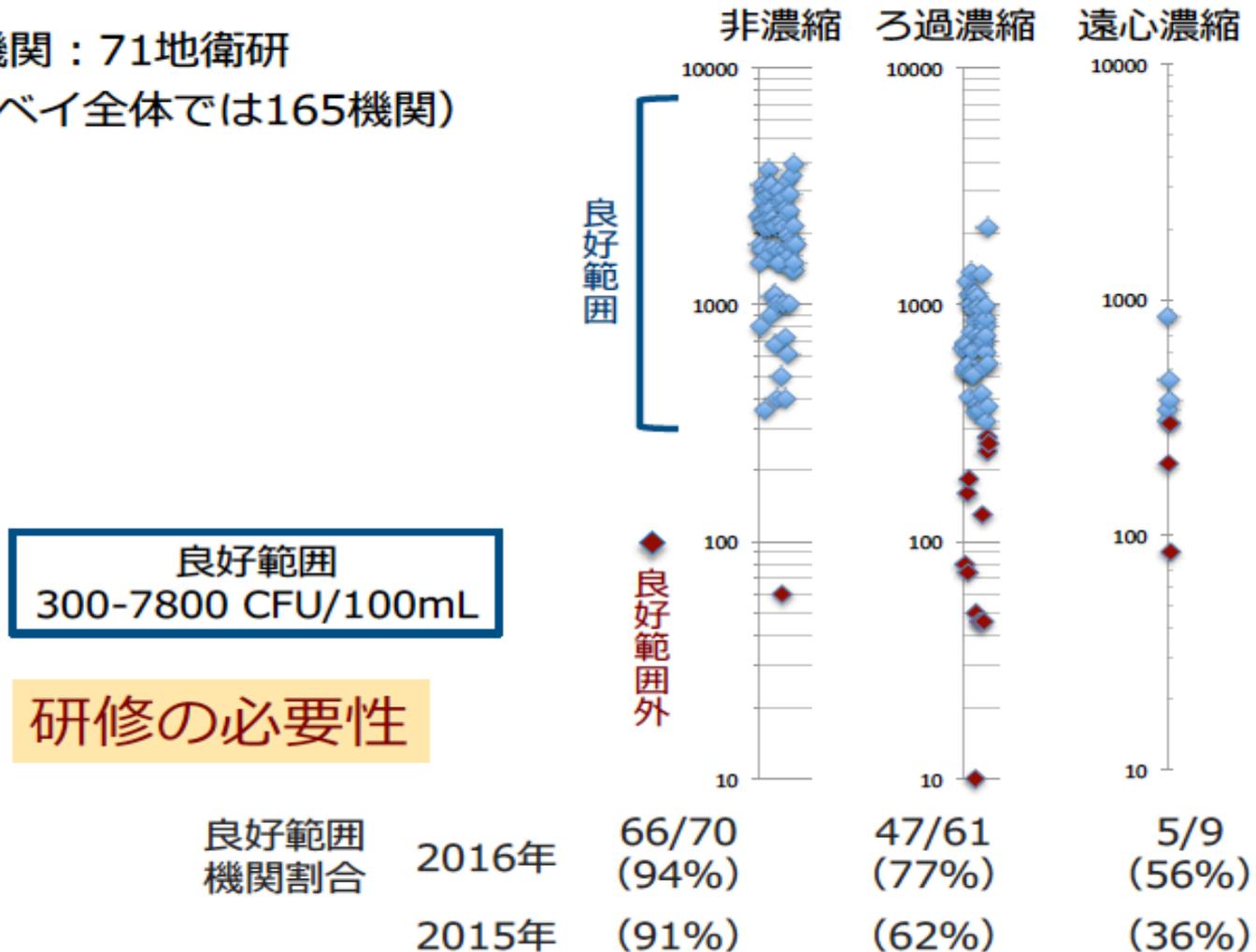
- ・最寄りの保健所、地方衛生研究所と相談
- ・コマーシャル・ラボに依頼をする  
厚生労働大臣による指定検査機関

<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/to pics/bukyoku/kenkou/suido/kentoukai/kanri.html>

<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000537178.pdf>

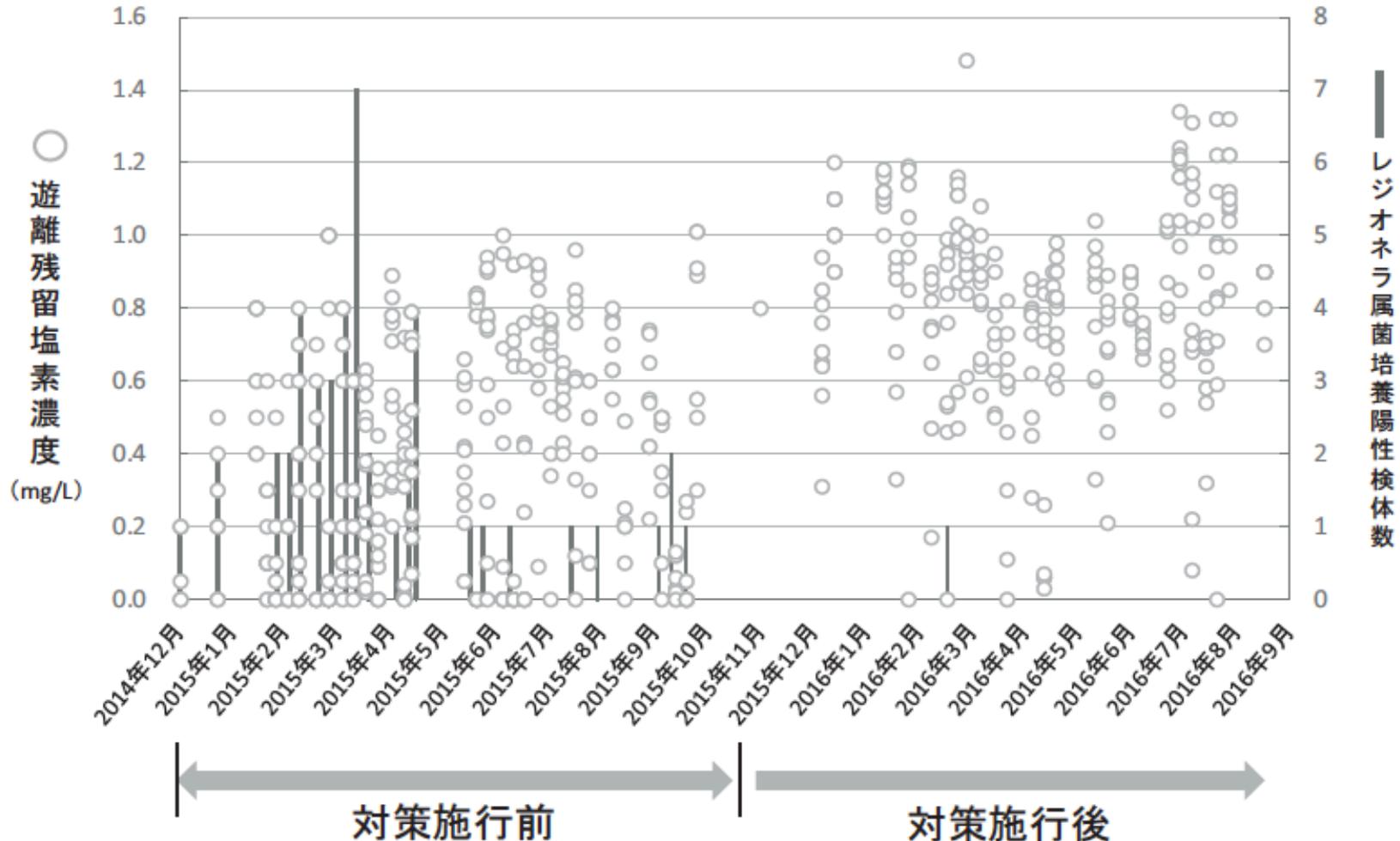
# 地衛研71施設の外部精度管理状況

- 参加機関：71地衛研  
(サーベイ全体では165機関)

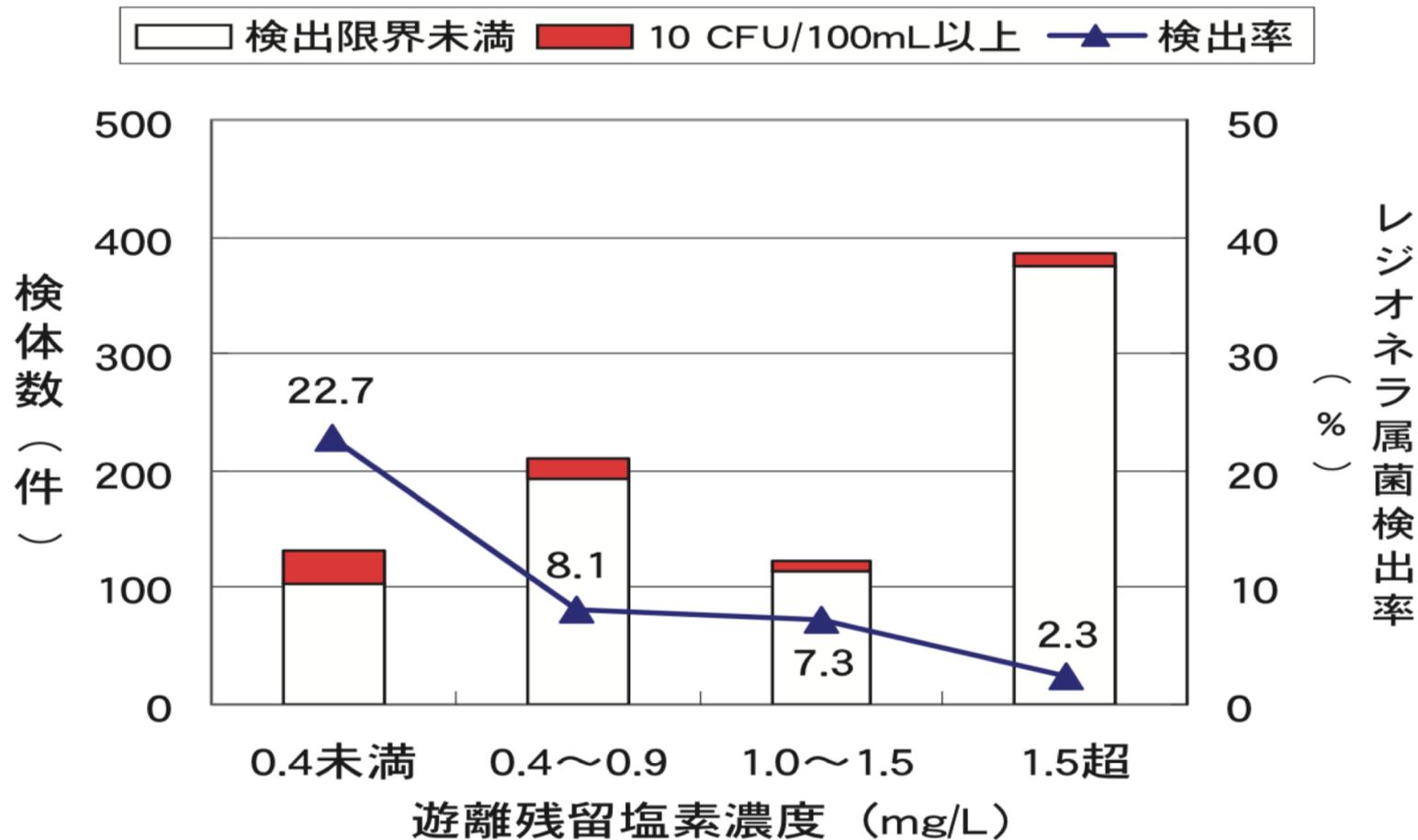


# 給水系のレジオネラ属菌の培養陽性数 および遊離残留塩素濃度の推移

中島ら：環境感染誌Vol. 33 no. 5, 2018



# 遊離塩素濃度とレジオネラの発生率



残留塩素濃度が 0.5 mg/L 程度では、ろ過材、パッキン等でのバイオフィルム中のレジオネラ殺菌が困難

# チェックリストの活用

European Technical Guidelines 2017: minimising the risk from *Legionella* infections in building water systems

---

Item to check	Yes	No	Comment/Action required
<b>1. Assessment of the ability of premises personnel to control risk</b>			
Is there a person or persons appointed with responsibility for <i>Legionella</i> control?			
Is this person(s), and other concerned relevant staff, properly trained in the control of <i>Legionella</i> and able to demonstrate they understand the system(s), risk factors and control measures?			
If an external firm is providing help and advice, have efforts been taken to ensure the contractors and operatives on site are trained and competent in this task and there is adequate supervision?			
<b>2. Assessment of the control measures (domestic cold and hot water temperatures and biocide levels)</b>			
Is there a continuous supply of source water of potable quality from a public utility?			
Is there a private water supply used for source water (e.g. well			

# チェックリストの活用

- ・レジオネラ症コントロールのための責任者が居るか？
- ・自施設の給水システムは適切な処置が施されているか？
- ・給水は全てが（給湯50～60℃,冷水25℃以下）で管理されているか？
- ・蛇口やシャワーは週1回、数分間放水できているか？
- ・配管に水が停留する箇所がないか？

など

# リスクアセスメント

(1) エアロゾル化の要因	
1) 給湯水、浴槽水、修景用水など……………	1点
2) 冷却塔水……………	2点
3) 加湿器、シャワー水、渦流浴浴水、打たせ湯等……………	3点
(2) 環境の要因	
1) 通常環境……………	1点
2) 人口密度が高い場所、…………… エアロゾルが集中的に流れ込みやすい場所等	2点
3) 閉鎖環境、設備の陳旧化等……………	3点
4) 加湿器を利用……………	4点
(3) 宿主側の要因	
1) 健常人……………	1点
2) 喫煙者、呼吸器疾患患者等……………	2点
3) 高齢者、新生児、乳児等……………	3点
4) 臓器移植患者、白血球減少患者、免疫不全患者等……………	4点

スコア	病院	老人施設	特定建築物	営業用
給湯水	4～6	4～5	3～4	—
冷却塔水	5～8	5～7	3～5	—
修景用水	5～8	5～7	3～5	—
渦流浴・温泉	6～9	6～8	3～5	5～8
加湿器水	7～11	7～9	6～8	—

スコア	細菌検査の回数
3点以下	常に維持管理に心がけ、必要に応じて細菌検査を実施
4～5点	1年以内に1回以上、設備の稼働初期に細菌検査を実施
6～7点	1年以内に2回以上、設備の稼働初期及び稼働期間中に細菌検査を定期的実施
8点以上	1年以内に3回以上、設備の稼働初期及び稼働期間中に細菌検査を定期的実施

**検出限界 (10CFU/100ml) 以下とすることを目標**